

CEPIVA ZA ZDRAVLJENJE MALIGNEGA MELANOMA

Prof. dr. Janja Ocvirk, dr. med.

Sektor internistične onkologije, Onkološki inštitut Ljubljana
Fakulteta za vede o zdravju, Univerza na Primorskem

Povzetek

Cepiva proti raku se soočajo s ponovnim razcvetom, zahvaljujoč nedavno doseženemu napredku na področju imunoterapije, vključno z uspehom zaviralcev imunskih nadzornih točk. Napredek v razumevanje načina delovanja zaviralcev imunskih nadzornih točk je razkrilo osrednjo vlogo neoantigenov pri izidu tega zdravljenja. Neoantigeni so postali prednostni antigeni za cepiva proti raku in so bili ocenjeni v več kliničnih preskušanjih. Ključna so bila spoznanja, da tumorsko specifične mutacije lahko povzročijo imunogene neoantigene. Dokazano je bilo, da imajo cepiva proti tumorskim neoantigenom sinergističen učinek z anti-PD-1 v tumorskih modelih z velikim številom mutacij. Mutacije so edinstvene za vsak posamezen tumor v veliki večini tumorjev, vključno z melanomom, zato zahtevajo osebni pristop. V raziskavah faze 1 so preizkušali več cepljenj na osnovi neoantigenov s personaliziranimi pristopi pri bolnikih z melanomom, nekatera so prešla v fazo II in maloštevilna tudi že v fazo III. Cepljenja z neoantigenskim cepivi pri bolnikih z melanomom so se izkazala za izvedljiva, imunogena in z ugodnim vplivom na klinični izid zdravljenja, na dokončne rezultate raziskav faze III pa bomo morali še počakati.

Ključne besede: cepiva, zaviralci imunskih nadzornih točk, melanom, neoantigen

Uvod

Cepiva proti raku so bila desetletja neuspešna, pogosto po spodbudnih zgodnjih rezultatih v majhnih poskusih. Raziskovalci so proti melanomu uporabili vsako možno formulacijo cepiva, od nespecifičnih cepiv, kot je bacil Calmette–Guérin (usmerjeno proti tuberkulozi), do avtolognih ali alogenskih celic, do tumorskih peptidnih in proteinskih pripravkov. Ne glede na vse veliko dogajanje pri cepivih je ameriška uprava za hrano in zdravila v preteklosti odobrila samo eno cepivo proti raku: sipuleucel-T za raka prostate leta 2010 – celična imunoterapija z minimalnimi koristmi za preživetje.

Pristop cepiva proti mRNA je lahko drugačen, saj omogoča ciljanje na več neoantigenov, specifičnih za bolnika in tumor. Če k temu dodamo uspeh imunoterapije pri blokiranju imunoregulacijskih krogov, ki jih tumorji pogosto izkoriščajo, so morda končno prispela učinkovita cepiva za nekatere vrste raka.

Po ocenah je bilo leta 2020 po vsem svetu ugotovljenih 325.000 novih primerov malignega melanoma. Klinična uporaba zaviralcev imunskih nadzornih točk v zadnjih 12 letih je spremenila zdravljenje melanoma in stopnja 5-letnega preživetja v ZDA se približuje 95 %. Vendar pogostnost melanoma narašča, zlasti pri ljudeh s svetlejšo poltjo, in pri manjšini bolnikov z diagnozo metastatske bolezni je 5-letna stopnja preživetja 35 %, čeprav je uvedba imunoterapije podvojila povprečni čas preživetja pri teh bolnikih. Obeti za bolnike z metastatskim melanomom so bili pred pojavom zaviralcev imunskih nadzornih točk tako slabi, da v času prelomnega preskušanja ipilimumaba (anti-CTLA-4) leta 2010 ni bilo odobrenega standarda zdravljenja, zato je kontrolna skupina prejela neuspešno (a varno) preizkušano peptidno cepivo: gp100.

Ni jasno, zakaj se melanom tako odziva na imunoterapijo. Običajna razlaga je, da imata melanom in pljučni rak, povezan s kajenjem, večjo mutacijsko breme kot večina tumorjev. Ta razlaga je privlačna in ustreza konvencionalni imunološki modrosti. Problem pa je, da je mutacijsko breme tumorja nezanesljiv marker za odzivnost na imunoterapijo. V preskušanju KEYNOTE-942 so imeli bolniki z velikim mutacijskim bremenom tumorja odzive na zdravljenje, podobne odzivom bolnikov z nizkim bremenom. Del odgovora morda leži v kakovosti, ne v količini ciljnih neoantigenov, čeprav je težko ugotoviti, koliko to prispeva k učinkovitosti mRNA-4157, ker algoritmi za izbiro epitopov niso javni. V preskušanju raka trebušne slinavke BioNTech je bil ključni marker prisotnost prvotnih celic T, ki so prepoznale antigene cepiva, saj je to trdno osnovno merilo učinka na tarčo. Ta zasnova preskušanja je vključevala tudi pameten nadzor splošne imunske sposobnosti: merjenje

odzivov na cepivo. Upajmo, da bodo podobni imunološki podatki objavljeni za mRNA-4157.

Spoznanje pomena neoantigenov za nadzor tumorja izhaja iz pozitivne korelacije med tumorskim mutacijskim bremenom (TMB) in odgovorom na zdravljenje z zaviralci imunskih nadzornih točk. Predklinične raziskave so dokazale učinkovitost neoantigenov cepiv na modelih, kar je pospešilo njihovo klinično testiranje. Tumorske mutacije pri večini vrst tumorjev, vključno z melanomom, niso skupne, kar zahteva osebni pristop. Več kliničnih študij je dokazalo, da je personalizirano cepljenje varno, izvedljivo, imunogeno in ima protitumorsko delovanje. V teku so nova preskušanja, katerih cilj je potrditi klinično aktivnost in kombiniranje cepiv z drugimi imunoterapijami za večjo učinkovitost.

Personalizirana cepiva so obetavna za zelo mutirane in imunogene vrste raka, vključno z melanomom. V teku so nenehna prizadevanja za povečanje njihove verjetnosti uspeha. Ključna so bila spoznanja, da tumorsko specifične mutacije lahko povzročijo imunogene neoantigene. Dokazano je bilo, da imajo cepiva proti tumorskim neoantigenom sinergističen učinek z anti-PD-1 v tumorskih modelih z velikim številom mutacij. Mutacije so edinstvene za vsak posamezen tumor v veliki večini vrst tumorjev, vključno z melanomom, zato zahtevajo osebni pristop. Več cepljenj na osnovi neoantigenov s personaliziranimi pristopi je bilo preizkušano v raziskava faze I pri melanomu. Cepljenja z neoantigenimi cepivi pri bolnikih z melanomom so se izkazala za izvedljivo, imunogeno in z ugodnim vplivom na klinični izid.

Cilj cepiva proti raku je spodbuditi učinkovit imunski odziv proti tumorskim antigenom. Pri razvoju učinkovitega terapevtskega cepiva proti raku sta dva glavna izziva: zelo imunosupresivno mikrookolje, ki ga vzpostavijo rakaste celice, in izbor rakavih antigenov. Nedavni napredek na tem področju je omogočil obravnavanje teh dveh glavnih ovir in s tem se je ponovno znatno povečalo zanimanje za cepiva proti raku. Neoantigeni nastanejo zaradi somatskih mutacij v kodiranju regije genoma. Mutirani proteini se cepijo v kratke peptide, ki so lahko na površini malignih celic, izzovejo tumorsko specifičen imunski odziv. Tumorske neoantigene lahko ločimo v dve vrsti: skupni neoantigeni, ohranjeni med bolniki, in personalizirani neoantigeni, edinstveni za vsakega posameznega bolnika. Tehnike sekvenciranja naslednje generacije (NGS) danes omogočajo identifikacijo tumorskih mutacij, zaradi česar je izvedljivo individualizirano zdravljenje. Ker je večina neoantigenov pri melanomu posledica naključnih mutacij, je večina neoantigenov specifična za bolnika in kot taka mora biti identificirana na osnovi tumorja vsakega bolnika za racionalno oblikovanje

personaliziranega cepiva proti raku. Neoantigenske kandidate za cepivo identificira NGS bolnikove tumorske DNK in primerjava tumorske DNK z bolnikovo normalno DNK. Ker se v tumorjih lahko kopičijo na stotine mutacij, so bili razviti bioinformacijski algoritmi za izbiro "najboljših" kandidatov in dajejo prednost tistim z največjo verjetnostjo induciranja odzivov T-celic. Frekvenca alelnih mutacij, številčnost RNA-transkripta kodiranja za mutacijo in teoretično vezavo MHC, najvišja afiniteta mutiranega peptida so običajno uporabljeni parametri za izbiro. Enonukleotidne variantne mutacije predstavljajo glavni vir neoantigenov, ki mu sledijo vstavljanja ali brisanja nukleotidov.

Za pripravo cepiva je potreben čas za vse korake. Čas izdelave je odvisen od izbire platforme cepiva in lahko običajno variira od 8 do 16 tednov. Nekateri tumorji so bolj mutirani kot drugi in tako nastanejo razlike v verjetnosti imunogenosti. Melanom ima zelo visok TMB, podoben tistemu v mišjih celičnih linijah, uporabljenih v pred kliničnih študijah. Zato predstavlja model za vrsto tumorja pri ljudeh, za potrditev rezultatov, pridobljenih z neoantigenskimi cepivi. Poleg tega zdravljenje z zaviralci imunskih nadzornih točk izvaja določen nadzor rasti tumorja tudi pri bolnikih, ki se morda ne bodo odzvali na zdravljenje z njimi, kar omogoča, da se medtem pripravi cepivo in injicira tudi tej skupini bolnikov.

Klinični podatki

Doslej personalizirana neoantigenska cepiva, ki temeljijo na različnih platformah, vključno z dendritičnimi celicami, virusnimi vektorji, cepiva na osnovi RNA in peptidov, so že v kliničnih preizkušanjih pri bolnikih z melanomom. Prva študija personaliziranega cepiva proti melanomu je bila z uporabo avtolognega cepiva na osnovi dendritičnih celic Carrena in sodelavcev. V tej študiji so bili bolniki z melanomom stadija III, ki so bili predhodno zdravljeni z ipilimumabom, nato cepljeni s humanim levkocitnim antigenom (HLA)-A 02:01-specifičnim tumorskim peptidom obremenjenimi dendritičnimi celicami. Cepivo so bolniki dobro prenašali, brez avtoimunskih neželenih učinkov. Analiza imunskega odziva na predhodno cepljenje mononuklearnih celic periferne krvi (PBMC) pred cepljenjem in po njem je dokazala indukcijo celic CD8 β T. Torej je bilo oboje: krepitev že obstoječega neoantigenska odziva in generacija de novo odzivov. Tako je bila to prva študija, ki je pokazala, da lahko neoantigensko cepivo poveča širino in raznolikost neoantigen specifičnih T-celie. Nekaj let kasneje sta bili objavljeni dve študiji, pri čemer je ena uporabljala peptide, druga pa RNA cepljenje [9-12]. Raziskava Ott in sodelavcev pri bolnikih z melanomom stadija III in reseciranega stadija

IV je v nadaljnjem spremljanju dokazala, da so povzročeni imunski odzivi trajni. Ta zanimiv pojav, imenovan širjenje epitopov, je bil opisan kot prisotnost de novo odziva T-celic, ki prepoznajo dodatne melanomske antigene, ki niso bili vključeni v cepivo. Podobno izhaja iz raziskave Sahin in sodelavci, kjer so uporabili cepivo na osnovi RNA za imunizacijo bolnikov z visokim tveganjem za ponovitev melanoma, z aplikacijo intranodalno. Pokazali so imunogenost do 60 % kodiranih neoantigenov. RNA neoantigenesko cepivo (RNA-lipoplex) so testirali tudi z intravensko aplikacijo v klinični raziskavi skupaj s pembrolizumabom pri metastatskem melanomu bolnikov v študiji faze II (NCT03289962). Te študije, bodisi z uporabo peptidov ali RNA cepiva, so pokazala prednostno indukcijo CD4 β v primerjavi s celicami CD8 β T. Podatki s preventivnimi cepivi kažejo, da je izbira platforme cepiva ključna za zagotovitev indukcije odziva T-celic CD8 β pri ljudeh. Virusno vektorsko cepivo in zlasti heterologni prime/boost z adenovirusi (Ad), ki jim sledi modificirana vakcinija Ankara (MVA), je dokazalo indukcijo močne in trajne odzive T-celic CD8 β pri ljudeh. Poleg tega so ti virusni vektorji še posebej primerni za kodiranje zelo velikih antigenov. V okviru cepiva proti raku je sposobnost teh vektorjev, da ciljajo na več neoantigenov hkrati in ponujajo prednost pri soočanju z imunskim pobegom tumorja in ga potencialno omeji.

Pri bolnikih, ki so prejeli mRNA-4157 in zdravilo proti PD-1 pembrolizumab v prejšnjem odprtem preskušanju KEYNOTE-942 faze 2 s 157 udeleženci, se je tveganje za ponovitev po operaciji ali smrt zmanjšalo za 44 % glede na tveganje samo s pembrolizumabom. Cepivo ni povečalo pogostnosti imunsko pogojenih neželenih učinkov pembrolizumaba ali resnih neželenih učinkov 3. stopnje ali višje. Najpogostejši neželeni učinki v zdravljeni skupini so bili utrujenost, bolečina na mestu injiciranja in mrzlica – zdaj dobro uveljavljeni neželeni učinki cepiv mRNA. Na podlagi rezultatov faze 2 je ameriška uprava za hrano in zdravila februarja 2023 kombinirano zdravljenje označila za prelomno. Podatki iz preskušanja so bili predstavljeni na srečanju Ameriškega združenja za raziskave raka aprila in na Ameriškem združenju za klinično onkologijo junija, vendar študija še ni bila objavljena v celoti.

mRNA-4157 ni eno samo zdravilo, temveč je personalizirana mRNA, ki kodira do 34 različnih neoantigenov, specifičnih za bolnika. V preskušanju KEYNOTE-942 faze 2 je bilo najmanjše število ciljnih epitopov na bolnika 9 in 91 % bolnikov je prejelo mRNA, ki kodira vseh 34 epitopov. Proizvodni program cepiva se začne s sekvenciranjem genoma tumorja in zdravega tkiva vsakega bolnika. Proizvajalec nato

uporabi lastniški algoritem za identifikacijo obetavnih mutacij, specifičnih za tumor. Celoten proces, od odvzema vzorcev do dostave mRNA, inkapsulirane v lipidne nanodelce, trenutno traja približno 6 tednov, čeprav naj bi skrajšali proizvodni čas na 30 dni. Potek zdravljenja obsega do devet intramuskularnih odmerkov cepiva mRNA, enega vsake 3 tedne, in devet intravenskih infuzij pembrolizumaba.

Začeli so že z vključevanjem v raziskavo faze 3 preskušanja prilagojenega cepiva proti melanomu, mRNA-4157 (znanega tudi kot V940), in pembrolizumaba, kot kombiniranega zdravljenja za bolnike z visokim tveganjem za ponovitev bolezni, ki so bili predhodno operirani. Cilj preskušanja je vključiti 1.089 bolnikov, vse v stadijih IIb do IV, s primarnim končnim ciljem preživetja brez ponovitve po operaciji. Končni rezultati bodo znani leta 2029.

Zaključek

Dandanes poteka več kliničnih študij z različnimi platformami cepiv in kombinirane terapije pri bolnikih z melanomom, vključno z randomiziranimi poskusi z dokazanimi pristopi cepljenja. Obetavni predhodni rezultati vodijo k prepričanju, da bo terapevtska učinkovitost dokazana v skladu s kliničnimi standardi. Medtem pa se razvoj pomika naprej, da se spoprime s kritičnimi vidiki tega novega personaliziranega pristopa usmeritve raziskovalne dejavnosti v izboljšave na celoten proces proizvodnje cepiv, ki naj bo hitrejši in cenejši. Poleg tega je zelo zanimivo dodatno področje, in sicer validacija biomarkerjev za izbiro bolnikov, ki bi jim to zdravljenje koristilo – od neoantigenkega cepljenja, do kombinacije z zaviralci imunskih nadzornih točk ali pa samo monoterapija z zaviralci imunskih nadzornih točk.

Literatura

1. Morganti S, Tarantino P, Ferraro E, et al. Next Generation Sequencing (NGS): a revolutionary technology in pharmacogenomics and personalized medicine in cancer. *Adv Exp Med Biol* 2019; 1168:9–30.
2. Richters MM, Xia H, Campbell KM, et al. Best practices for bioinformatic characterization of neoantigens for clinical utility. *Genome Med* 2019; 11:56.
3. Leoni G, D'Alise AM, Tucci FG, et al. VENUS, a novel selection approach to improve the accuracy of neoantigens' prediction. *Vaccines (Basel)* 2021; 9.
4. Richard G, Princiotta MF, Bridon D, et al. Neoantigen-based personalized cancer vaccines: the emergence of precision cancer immunotherapy. *Expert Rev Vaccines* 2022; 21:173–184.
5. Lawrence MS, Stojanov P, Polak P, et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature* 2013; 499: 214–218.
6. Schumacher TN, Schreiber RD. Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science* 2015; 348:69–74.
7. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, et al. Cancer genome landscapes. *Science* 2013; 339:1546–1558.
8. Carreno BM, Magrini V, Becker-Hapak M, et al. Cancer immunotherapy. A dendritic cell vaccine increases the breadth and diversity of melanoma neoantigen-specific T cells. *Science* 2015; 348:803–808.
9. Hu Z, Leet DE, Allesoe RL, et al. Personal neoantigen vaccines induce persistent memory T cell responses and epitope spreading in patients with melanoma. *Nat Med* 2021; 27:515–525.
This work demonstrates the important finding that a personal neoantigen vaccine can stimulate a durable immune T-cell response in patients with melanoma.
10. Ott PA, Hu Z, Keskin DB, et al. An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma. *Nature* 2017; 547:217–221.
11. Sahin U, Derhovanessian E, Miller M, et al. Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer. *Nature* 2017; 547:222–226.
12. Lopez JS, Camidge R, Iafora M, et al. Abstract CT301: a phase Ib study to evaluate RO7198457, an individualized Neoantigen Specific immunoTherapy (iNeST), in combination with atezolizumab in patients with locally advanced or metastatic solid tumors. *Cancer Res* 2020; 80(16_Suppl); CT301-CT.
13. Sasso E, D'Alise AM, Zambrano N, et al. New viral vectors for infectious diseases and cancer. *Semin Immunol* 2020; 50:101430.
14. Hartnell F, Brown A, Capone S, et al. A novel vaccine strategy employing serologically different chimpanzee adenoviral vectors for the prevention of HIV-1 and HCV coinfection. *Front Immunol* 2018; 9:3175.
15. Khattak A, Weber JS, Meniawy T, Taylor MH, Ansstas G, Kim KB, McKean M et al. Distant metastasis-free survival results from the randomized, phase 2 mRNA-4157-P201/KEYNOTE-942 trial. *JCO* 2023, vol 41 supp 17, abstract LBA9503
RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin.* 2023 Jan;73(1):17-48.
Oettle H, Neuhaus P, Hochhaus A, Hartmann JT, Gellert K, et al. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine and long-term outcomes among patients with resected pancreatic cancer: the CONKO-001 randomized trial. *JAMA.* 2013 Oct 9;310(14):1473-81.