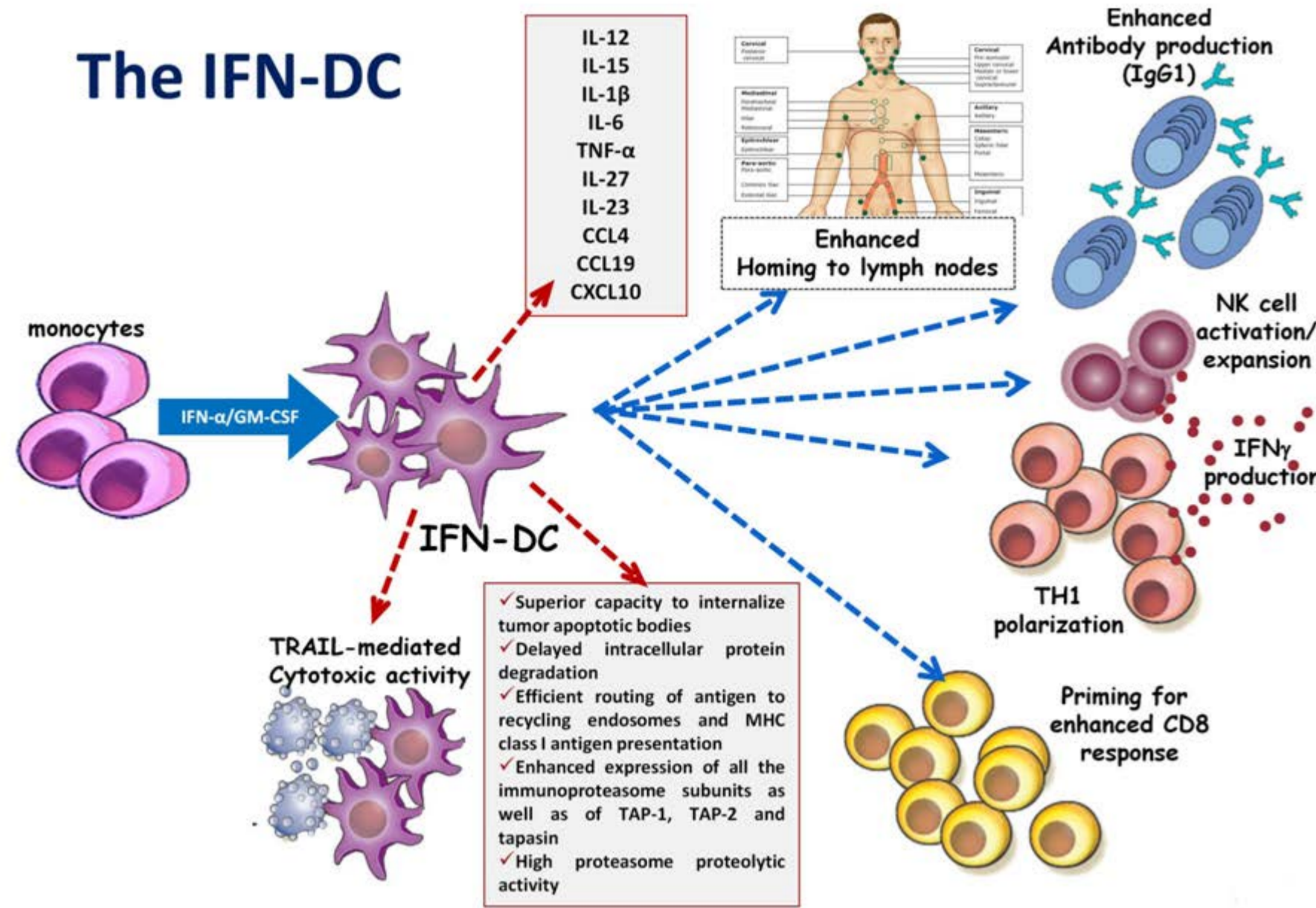


IFN-DC: un nuovo farmaco cellulare autologo per l'immunoterapia dei tumori sviluppato all'ISS e in fase di sperimentazione clinica.

¹Santini S.M., ¹Lapenta C., ²Santodonato L., ²D'Agostino G., ¹Donati S., ²Montefiore E., ²Carlei D., ²Monque D., ²Napolitano M., ¹Lattanzi L., ¹Urbani F., ¹Macchia I., ¹Spadaro F., ²Aricò E., ³Spada M., ¹Proietti E., ⁴Cox M.C., ⁵Belardelli F., ¹Capone I., ²Rozera C.

¹ Dipartimento di Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore Di Sanità, Roma; ²Servizio Grandi strumentazioni e Core facilities, Istituto Superiore Di Sanità; Roma, ³Servizio biologico e per la gestione della sperimentazione animale, Istituto Superiore Di Sanità, Roma, ⁴Unità di Ematologia, Azienda Ospedaliera Sant'Andrea, Roma. ⁵Istituto di farmacologia traslazionale, CNR, Roma.

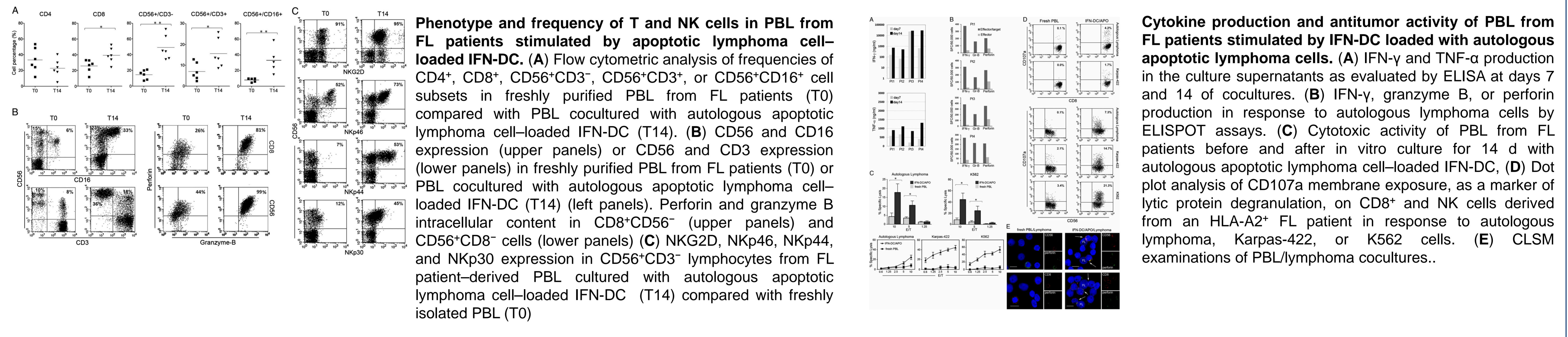


ABSTRACT

Il nostro laboratorio ha dimostrato come l'IFN- α sia in grado di indurre il rapido differenziamento dei monociti di sangue periferico in una nuova sottopopolazione di cellule dendritiche (IFN-DC), capace di promuovere efficacemente l'immunità di tipo cellulare. Le IFN-DC, rappresentano oggi un nuovo "farmaco cellulare", interamente sviluppato e caratterizzato presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) (J Exp Med. 2000, 15;191:1777-88), protetto da brevetto (US patent serial N° 09/845042, PCT/EPO2/04709) e con promettenti prospettive d'impiego nell'immunoterapia di pazienti oncologici. La completa sicurezza e tollerabilità delle IFN-DC, prodotte presso la cell-factory dell'ISS (FabioCell), è stata dimostrata in un trial di fase I di chemio-immunoterapia in pazienti con melanoma avanzato, i cui risultati sono stati recentemente pubblicati (J Transl Med. 2015, 2;13:139). Le IFN-DC sono in grado di fagocitare efficientemente cellule di linfoma follicolare (FL) apoptotiche, promuovendo una vigorosa risposta antitumorale in colture di linfociti autologhi provenienti da pazienti, caratterizzata da una massiva produzione di IFN- γ e l'attivazione/espansione dei linfociti NK e CD8 citotossici, con aumento dell'attività citolitica verso le cellule di linfoma (J Immunol. 2016;197(3):795-806). Nonostante la sopravvivenza globale dei pazienti superi i 10 anni, il FL rimane una malattia incurabile che necessita dello sviluppo di nuove opzioni terapeutiche. La capacità delle IFN-DC di fagocitare le cellule linfomatose e stimolare una risposta verso antigeni linfoma-associati ha costituito un solido razionale per l'attivazione di un trial di fase I di "terapia intranodale" in pazienti con FL. L'immunoterapia è basata su cicli di somministrazione in un nodulo linfomatoso di basse dosi di anti-CD20 (rituximab), seguita dall'inoculo di IFN-DC autologhe. Attualmente, sono stati arruolati sette pazienti in stadio II-IV in fase indolente della malattia, con almeno una localizzazione superficiale del linfoma, così da permettere la somministrazione intraslesionale del trattamento. I risultati preliminari hanno mostrato risposta clinica in 4 su 5 pazienti attualmente valutabili. Tre pazienti hanno mostrato remissione completa evidenziata con PET-TC. In aggiunta a questo studio clinico ancora in corso, sono in fase di sviluppo protocolli di "caricamento" in vitro di IFN-DC con lisati immunogenici di cellule tumorali autologhe o proteine ricombinanti di antigeni tumorali in diversi modelli di tumori umani, al fine di sviluppare vaccini terapeutici, da utilizzare anche in combinazione con altri farmaci antitumorali di vecchia e nuova generazione.

PRE-CLINICAL DATA IN FOLLICULAR LYMPHOMA PATIENTS

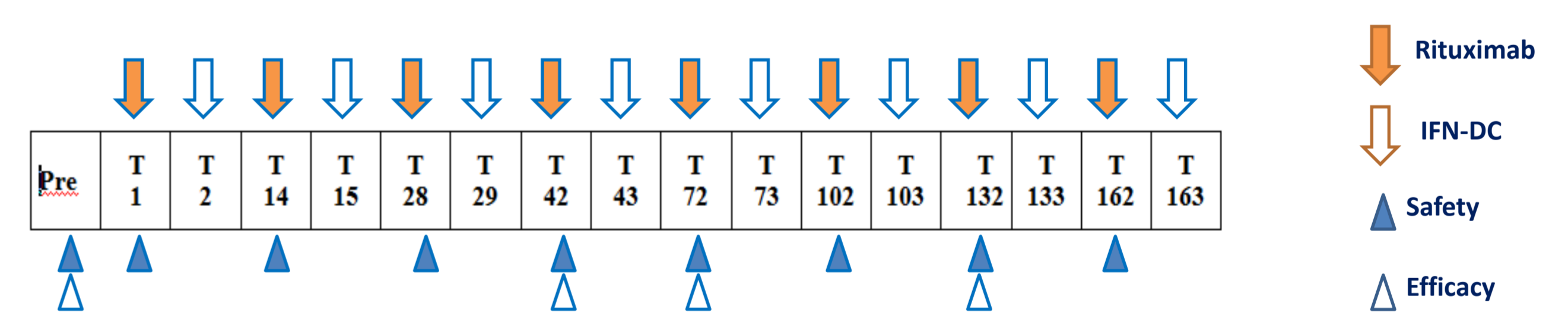
Antitumor Response Induced by IFN- α Dendritic Cells Loaded with Apoptotic Cells from Follicular Lymphoma Patients (J Immunol August 1, 2016, 197: 795-806;)



PHASE I CLINICAL STUDY IN FOLLICULAR LYMPHOMA

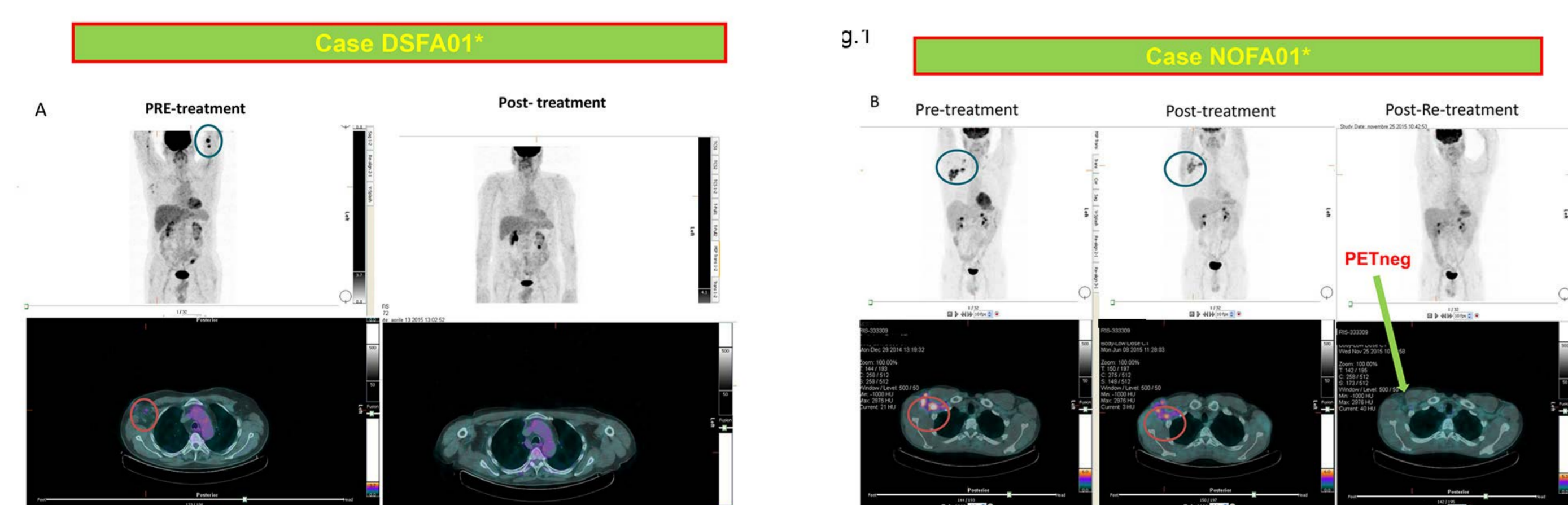
IFN-DC Trial (EudraCT: 2013-003158-25) is a phase I trial based on an "in situ vaccination" approach, consisting in the intranodal direct injection (IDI) of low-dose anti-CD20 antibody, followed by unloaded IFN-DC, in patients with advanced FL relapsing after at least two previous lines of therapy.

Treatment regimen
Rituximab (5-10mg) and IFN-DC ($10 \pm 5 \times 10^6$ cells) are administered by intranodal direct injection (IDI). Treatment regimen foresees eight injection cycles, each consisting of the combined administration of Rituximab and IFN-DC, the first four administered weekly and the remaining four administered monthly.



PRELIMINARY RESULTS

The treatment proved to be safe, feasible and well tolerated. No toxicity (Grade 2-5) or Adverse Events were observed. Five patients have completed treatment and three experienced complete remission with disappearance of both proximal and distal lesions. In both responding patients, the distal lymph nodes, not directly treated by IDI, reduced to normal size earlier than treated lesions, suggesting that an abscopal effect was occurring. One patient is still in durable complete clinical and molecular remission after 18 months. The other patient, who had progressed after completing 8 cycles of treatment, experienced a complete clinical remission after a second course of immunotherapy.



Although preliminary, our results suggest that intratumoral immunotherapy is a safe approach, capable of eliciting systemic efficacy against Follicular lymphoma. If the final immune response and therapeutic efficacy data will confirm the early encouraging results, this study may pave the way for an earlier application of cell therapy in patients affected by indolent lymphoproliferative disorders, possibly leading to improved patients survival and quality of life and to more affordable therapeutic options. Moreover, we can envisaged that the integration of DC-based therapies into future multi-modality therapy strategies may further improve their efficacy.

PERPECTIVES

WHOLE TUMOR PERSONALIZED ANTIGEN VACCINES

Whole tumor antigen with its vast amount of characterized and uncharacterized T cell epitopes available for activating CD4+ and CD8+ cells simultaneously, represents an attractive alternative source of antigens to tumor-derived peptides and full-length recombinant tumor proteins for IFN-DC-based immunotherapy. Results from a meta-analysis of about 1,800 patients showed that patients who were immunized with whole tumor vaccines had a significantly higher objective response (8.1%) than patients who were immunized with defined tumor antigens (3.6%).

Apoptotic cell death of neoplastic cells promotes efficient transfer of tumor-associated antigens (TAAs) to the MHC class I processing pathway of DC. In addition, stress stimuli such as heat shock have been shown to increase the immunogenicity of neoplastic cells.

The efficacy of cell lysates can be enhanced by oxidative modification using **hypochlorous acid (HOCl) treatment**. It has been demonstrated that proteins oxidized by HOCl are more readily taken up and processed by antigen presenting cells (APCs) and lead to enhanced priming of autologous tumor-specific CD4+ and CD8+ T-cell responses in vitro.

ACTIVE IMMUNOTHERAPY

IMMUNO-MODULATION

