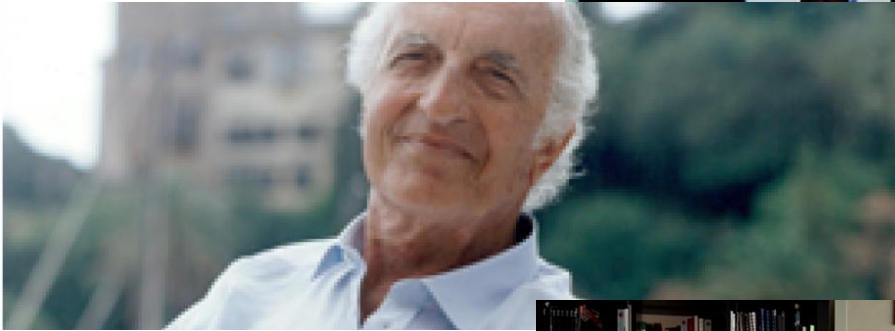
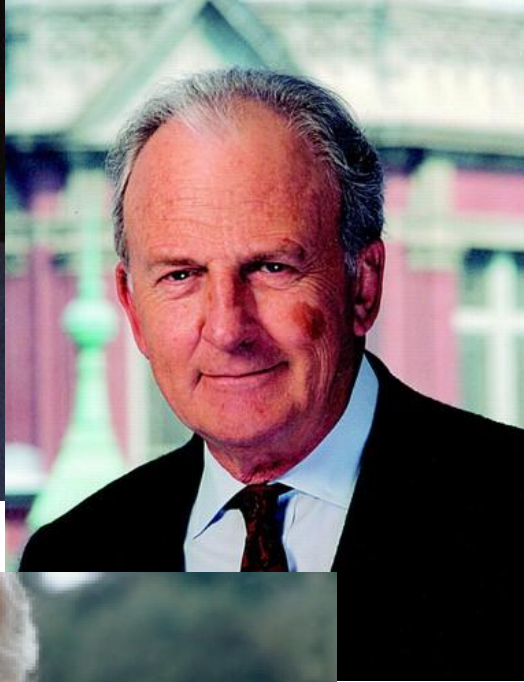
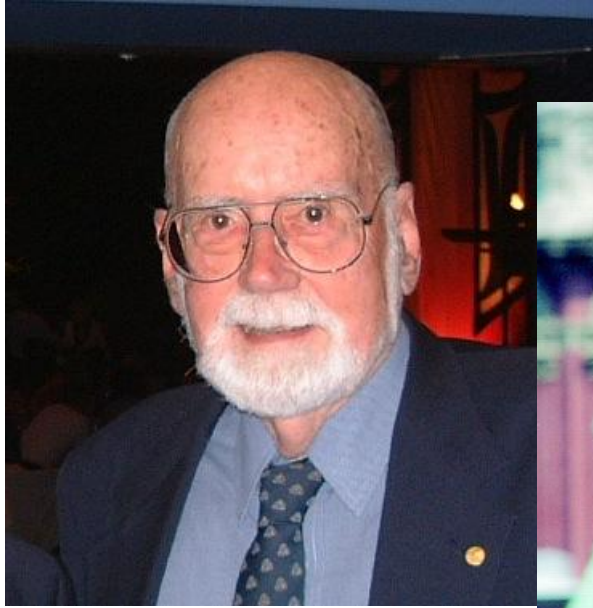


Innovazione in Oncologia

**Centro di Eccellenza di Oncologia ed
Ematologia Pediatrica**

Ospedale Pediatrico Meyer

Claudio Favre



1° TERAPIA Cellulare, Immune e Genica:

1950 E.D. Thomas ha iniziato gli studi sul trapianto di midollo osseo

1957 NEJM

1959 primo trapianto di Georges Mathé

1968 primo successo R. Good e G. Santos

1976 Italia A. Marmont

1981 Talassemia G. Lucarelli

1990 Premio Nobel

IMMUNOTERAPIA NELLA LOTTA AI TUMORI

- Negli ultimi decenni l'immunoterapia è entrata a far parte nella lotta contro i tumori
- Associata alle terapie convenzionali
- Tecnicamente concetto semplice : sfruttare e pilotare il sistema immunitario dell'individuo affinché possa rispondere in modo adeguato ed efficace alla presenza di un agente estraneo come il cancro
- Efficace perché i tumori sono capaci di eludere il sistema immunitario
- Attivano infatti i circuiti regolatori che mediano l'immunotolleranza

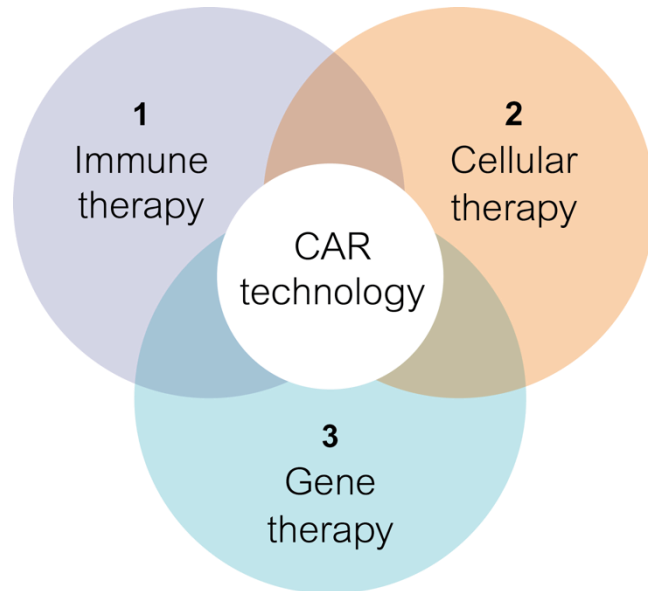
STRATEGIE IMMUNOTERAPICHE

- **Anticorpi monoclonali:** anticorpi progettati per attaccare un antigene specifico sulla cellula tumorale (o stimola il sistema immunitario ad aggredire le cellule tumorali o può indurre all'autodistruzione oppure blocca tramite il legame recettoriale la crescita tumorale)
- **Inibitori del checkpoint immunitario:** questi farmaci colpiscono i «freni inibitori» del sistema immunitario (es.: anti-PD-1)
- **Vaccini:** sostanze introdotte per iniziare una risposta immunitaria specifica (es.: papilloma virus)
- **Altre terapie non specifiche** che sfruttano l'infusione di cellule killer attivate da specifiche interleukine come le cellule Natural Killer

CAR T cells are actually at the intersection of 3 Innovative Technologies

CAR technology adds to the ability of investigational immunocellular therapies to leverage the immune system's intrinsic abilities to eliminate cancers

CAR technology sits at an intersection^{1,2}



1. Immune therapy

Harnessing an individual's own immune system

2. Cellular therapy

Using an individual's own T cells*

3. Gene therapy

Inserting genes into a patient's cells, causing them to express a new CAR protein*

* Here, and in subsequent slides, the focus is on the use of *autologous* CAR-T cells, which is the approach that has been studied most often in clinical trials.³ However, *allogeneic* CAR-T cells (ie, "off-the-shelf" CAR-T cells manufactured from T cells obtained from a single donor and used to treat multiple patients) are also being studied.⁴

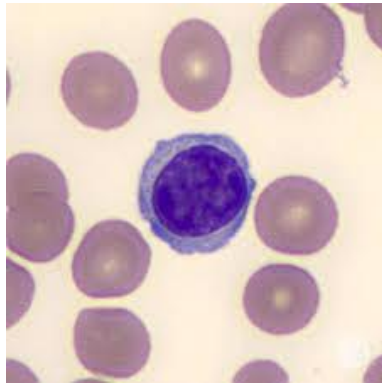
References: 1. Batlevi CL et al. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016;13(1):25-40. 2. Porter DL et al. *J Cancer*. 2011;2(1):331-332. 3. Torikai H, Cooper LJ. *Mol Ther*. 2016;24(7):1178-1186. 4. Wang X, Rivière I. *Mol Ther Oncolytics*. 2016;3:16015.

CAR-T

- Frammenti di DNA veicolati all'interno dei linfociti T in modo da insegnare loro a riconoscere antigeni tumorali specifici per ogni tipo di tumore
- In questo scenario si introducono i CAR-T (Chimeric Antigen Receptor)
- Linfociti T geneticamente ingegnerizzati in laboratorio (ex-vivo)
- In grado di attivare la risposta citotossica (di uccidere le cellule tumorali) molto più efficace di qualsiasi altra immunoterapia

COSTRUZIONE dei CAR-T

- I **linfociti T normali** vengono isolati dal sangue del paziente e «**armati**» con un recettore assemblato in laboratorio, ancora più mirato e potente del TCR

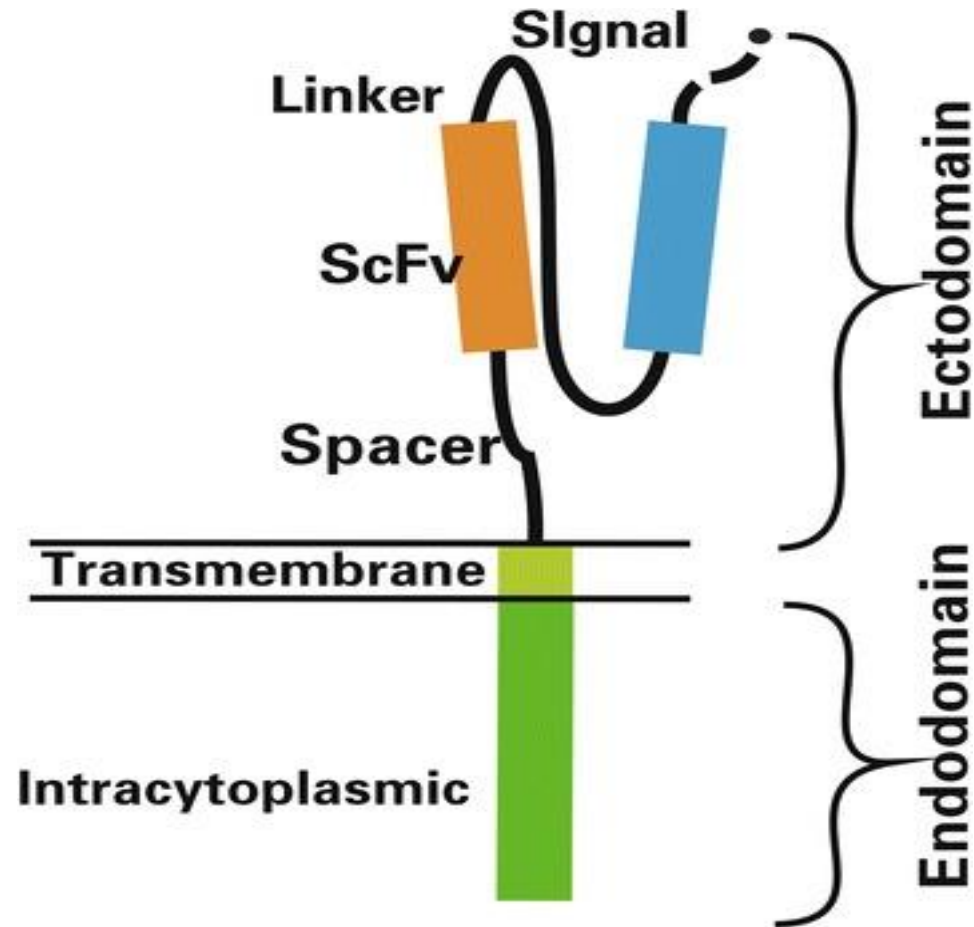


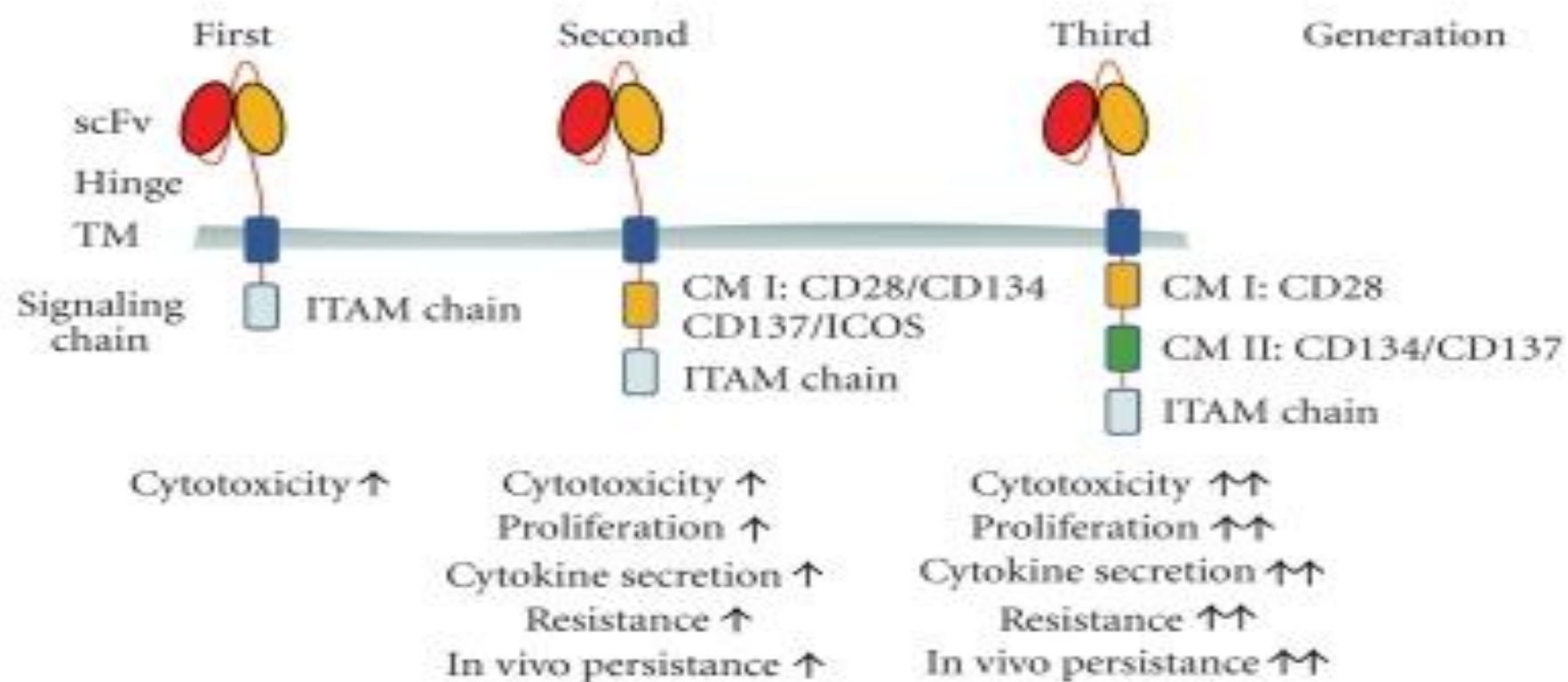
- Il recettore CAR è detto chimerico perché è costituito da diverse componenti:
 - 1) porzione di anticorpo che riconosce il target tumorale con grande specificità
 - 2) porzione intracellulare che stimola la cellula T ad attivarsi appunto in maniera particolarmente aggressiva contro il tumore

COSTRUZIONE dei CAR-T

- Per superare la tolleranza tumorale derivata da carenze del repertorio del TCR, le cellule T sono ingegnerizzate con sequenze di DNA codificanti i frammenti variabili a catena singola (scFv) di anticorpi monoclonali
- CAR-T riconoscono direttamente gli antigeni della superficie cellulare, senza dipendere dalla presentazione mediata da MHC (molecole complesse di istocompatibilità)
- Questo aspetto è molto importante perché le cellule tumorali hanno la capacità di sottoregolare (immunotolleranza) le molecole di classe I MHC e disattivare così le cellule T

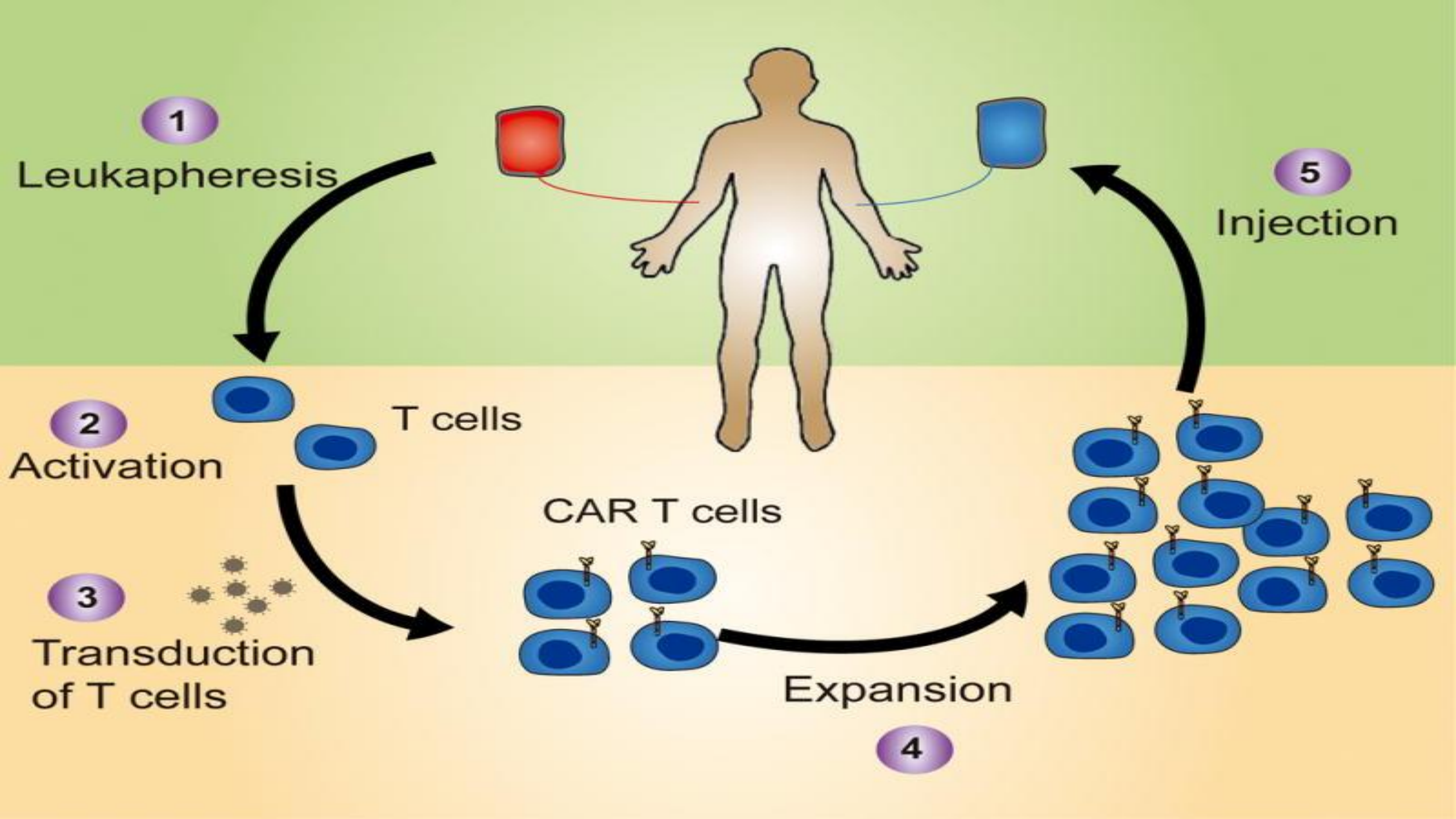
Struttura del Recettore CAR



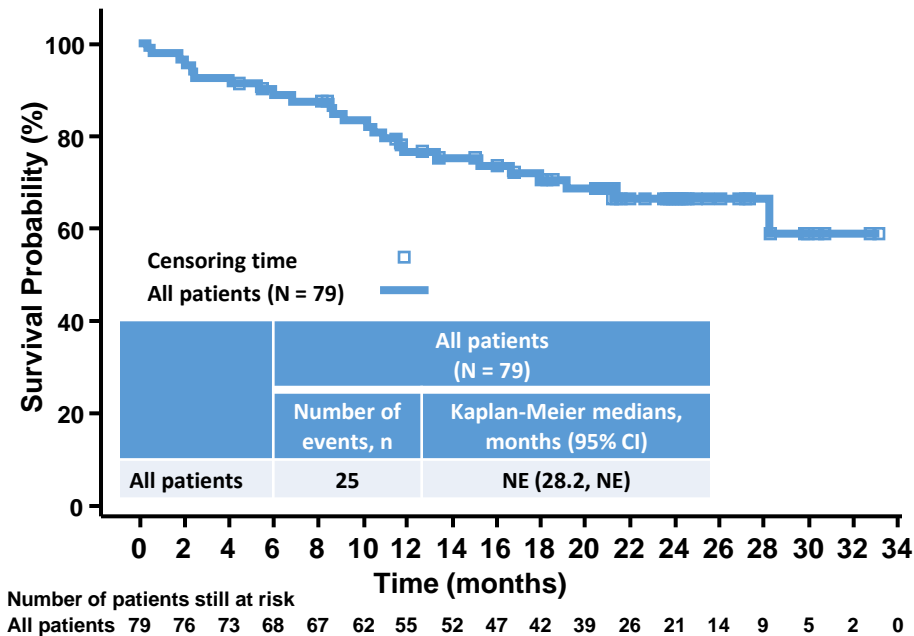


Overview of treatment modalities of adoptive cell therapy

	TIL	TCR	CAR
First evidence of clinical benefit	1994	2006	2013
Production method	Isolation of T cells from tumors and expansion ex vivo	Isolation of peripheral T cells via apheresis and ex vivo transduction with a TCR against tumor antigen	Isolation of peripheral T cells via apheresis and ex vivo transduction with a CAR against tumor antigen
Target	MHC-peptide complex	<u>MHC-peptide complex</u>	<u>Non-MHC cell surface proteins</u>
Lymphodepleting preparative regimen	Yes	Yes	Yes
Supportive IL-2	Yes	Varying	No
Specificity	Polyclonal	Monoclonal	Monoclonal
Main toxicity	Lymphodepleting regimen IL-2 mediated (chills, fever, edema) Seldom autoimmune	Lymphodepleting regimen “On-target, off-tumor” CRS	Lymphodepleting regimen “On-target, off-tumor” CRS Neurological
Restrictions	Complex Heterogeneous infusion product	MHC-restricted <u>Currently not yet tumor-specific</u> Toxicity	Currently only effective for treatment of hematological malignancies Toxicity



ELIANA Median Overall Survival Not Reached



- Overall survival rates among all infused patients
 - 12-month: 76% (95% CI, 65-85)
 - 18-month: 70% (95% CI, 58-79)
 - 24-month: 66% (95% CI, 54-76)

Note: All patients infused with tisagenlecleucel were included. Time is relative to infusion.
 CR, complete remission; CRi, complete remission with incomplete blood count recovery; NE, not estimable.

Open Access Full Text Article

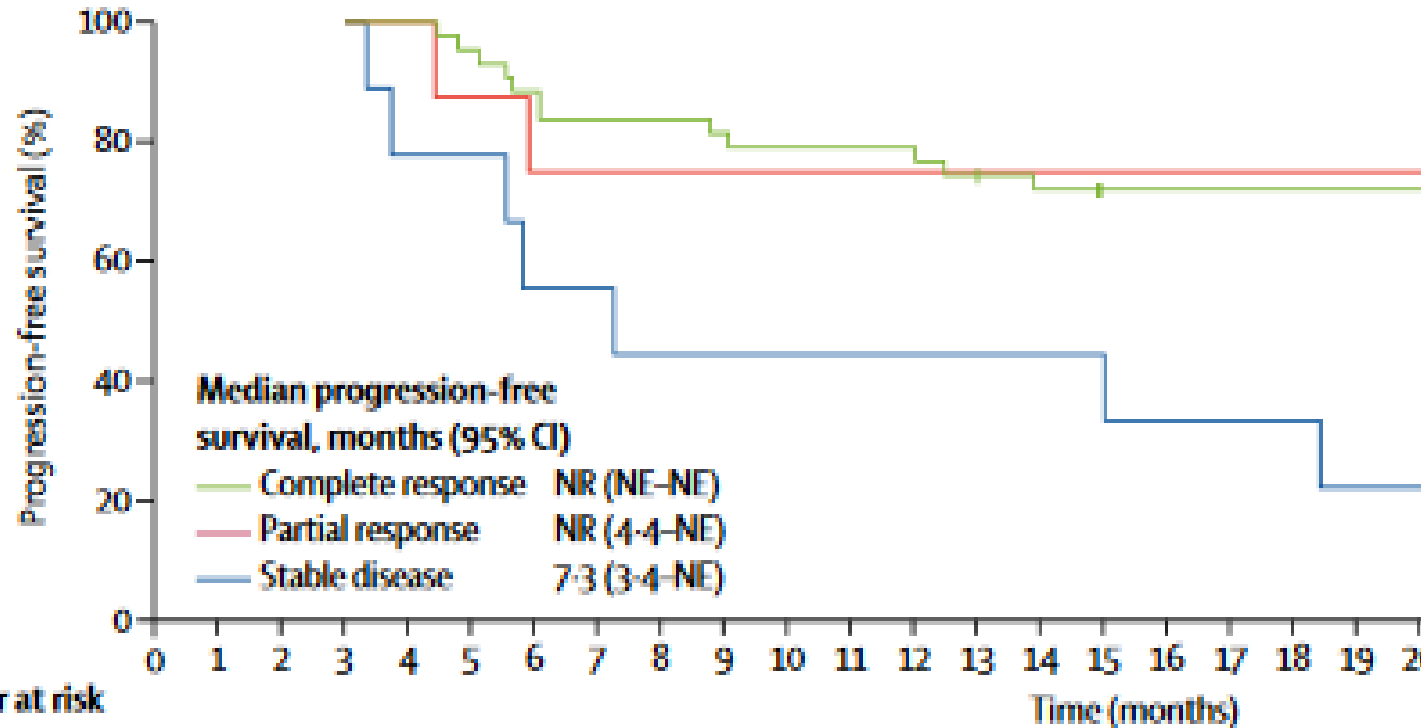
Chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy as a treatment option for patients with B-cell lymphomas: perspectives on the therapeutic potential of Axicabtagene ciloleucel

This article was published in the following Dove Press journal: *Cancer Management and Research*

Andreas Viardot¹
Verena Wais¹
Elisa Sala¹
Sixten Koerper^{2,3}

¹Department of Internal Medicine III, University Hospital Ulm, Ulm, Germany; ²Institute of Clinical Transfusion Medicine and Immunogenetics Ulm, German Red Cross Blood Transfusion Service Baden-Württemberg-Hessen and University Hospital Ulm, Ulm, Germany; ³Institute of Transfusion Medicine, University of Ulm, Ulm, Germany

Abstract: Axicabtagene lisoleucel (Axi-cel) is the second approved gene-altering cancer treatment and the first in aggressive lymphoma using the “chimeric antigen receptor” (CAR) technology. T-cells from patients were transfected with CARs and reinfused after a lymphodepleting chemotherapy. CAR T-cells are “living drugs” with the ability to persist and expand after a single infusion. Axi-cel is a “second generation” CAR product characterized by the use of a retroviral gene vector transfer and by CD28 as costimulatory domain. In a phase II trial with heavily pretreated patients with aggressive B-cell lymphoma, the overall response rate was 82% with an ongoing complete response rate of 40% after 6 months – with expectations of long-term remissions and cure, even though follow-up data are still limited. There are some prominent side effects like cytokine release syndrome (Grade 3–5: 13%) and neurotoxicity (Grade 3–5: 28%). Novel strategies for prediction, prevention and treatment of these critical side effects are warranted. There are new concepts to enhance the efficacy and prevent resistance in lymphomas. CAR T-cells represent an extremely evolving field with an inestimable potential in general and particularly in aggressive lymphoma. However, we are still learning how to use Axi-cel and other CAR-T cells compounds effectively to optimize the long-term results.



Median progression-free survival, months (95% CI)

- Complete response NR (NE-NE)
- Partial response NR (4-4-NE)
- Stable disease 7.3 (3-4-NE)

Number at risk (number censored)

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24										
Complete response	43	43	43	43	43	41	38	36	36	35	34	34	34	32	30	28	28	28	28	28	28	28	28	28	17	3	3	3	3	2	0	--			
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(14)	(28)	(28)	(28)	(28)	(28)	(9)	(31)	--		
Partial response	8	8	8	8	8	7	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	4	2	0	--	--	--	--	--	--	--		
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(4)	(6)	--	--	--	--	--	--	--	--	
Stable disease	9	9	9	9	9	7	7	5	5	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	2	2	2	0	--	--	--	--	--	--	--	--	
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	--	--	--	--	--	--	--	--

Figure 2: Post-hoc analysis of investigator-assessed progression-free survival by response status at 3 months after axicabtagene ciloleucel 60 patients with ongoing complete response, partial response, or stable disease month 3 in phase 2 are shown. The x-axis shows time since infusion of chimeric antigen receptor T cells. Four of eight patients with partial responses and four of nine patients with stable disease at 3 months subsequently converted to complete responses. NR=not reached. NE=not estimable.

CONCLUSIONI CAR-T

- Terapia rivoluzionaria senza alcun dubbio efficace e con buone possibilità di guarigione (% ?) in pazienti non più responsivi
- Percentuale non indifferente di effetti indesiderati gravi: tuttavia, considerando i pazienti trattati, il rischio è ampiamente giustificato
- Terapia molto costosa: da rapportare con altre terapie e da considerare l'aspettativa di vita
- Necessario contrattare il prezzo con le Company
- Selezionare accuratamente i pazienti candidati (Commissione di Esperti) : non tutti i pazienti, anche se eleggibili, sono da trattare
- Alleanza tra mondo accademico e Company

COSA SUCCEDERA' ?

CAR-T O TIR-T ?



Sperimentazione cliniche di Fase 1 in Pediatria

Unità di Fase 1 Oncoematologia Meyer

Il futuro passa da qui.....

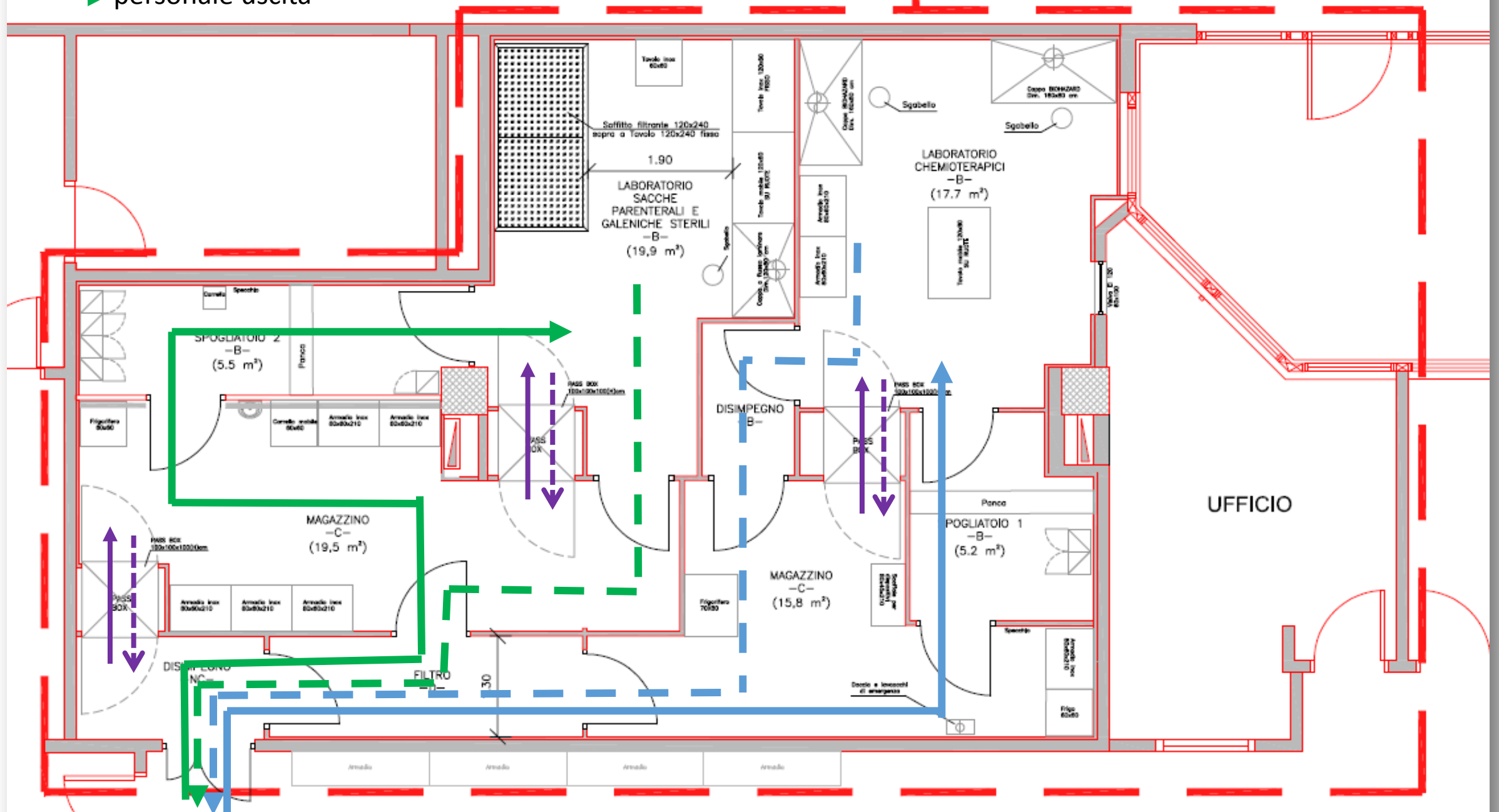
Adeguamento dei Centri di Fase 1 ai requisiti prescritti dalla Determina AIFA 809/2015

- L' idoneità dei Centri che eseguono sperimentazione cliniche di Fase 1 costituisce un elemento fondamentale di garanzia della tutela dei diritti, della sicurezza e del benessere dei soggetti in sperimentazione garantendo l'affidabilità dei risultati delle sperimentazione.
- In tale contesto particolare rilevanza assume la Determina AIFA del 2015 inerente i requisiti necessari per le strutture sanitarie che eseguono sperimentazioni di Fase 1 prescrivendo numerosi, specifici ed articolati requisiti di qualità di tipo strutturale, organizzativo e procedurale sia per i reparti clinici che per i laboratori di cui detti Centri devono essere in possesso per essere legittimati a condurre tali sperimentazioni.

→ personale entrata
→ personale uscita

→ materiali entrata
→ materiali uscita

→ personale entrata
→ personale uscita



Determina AIFA 2015 in Oncologia

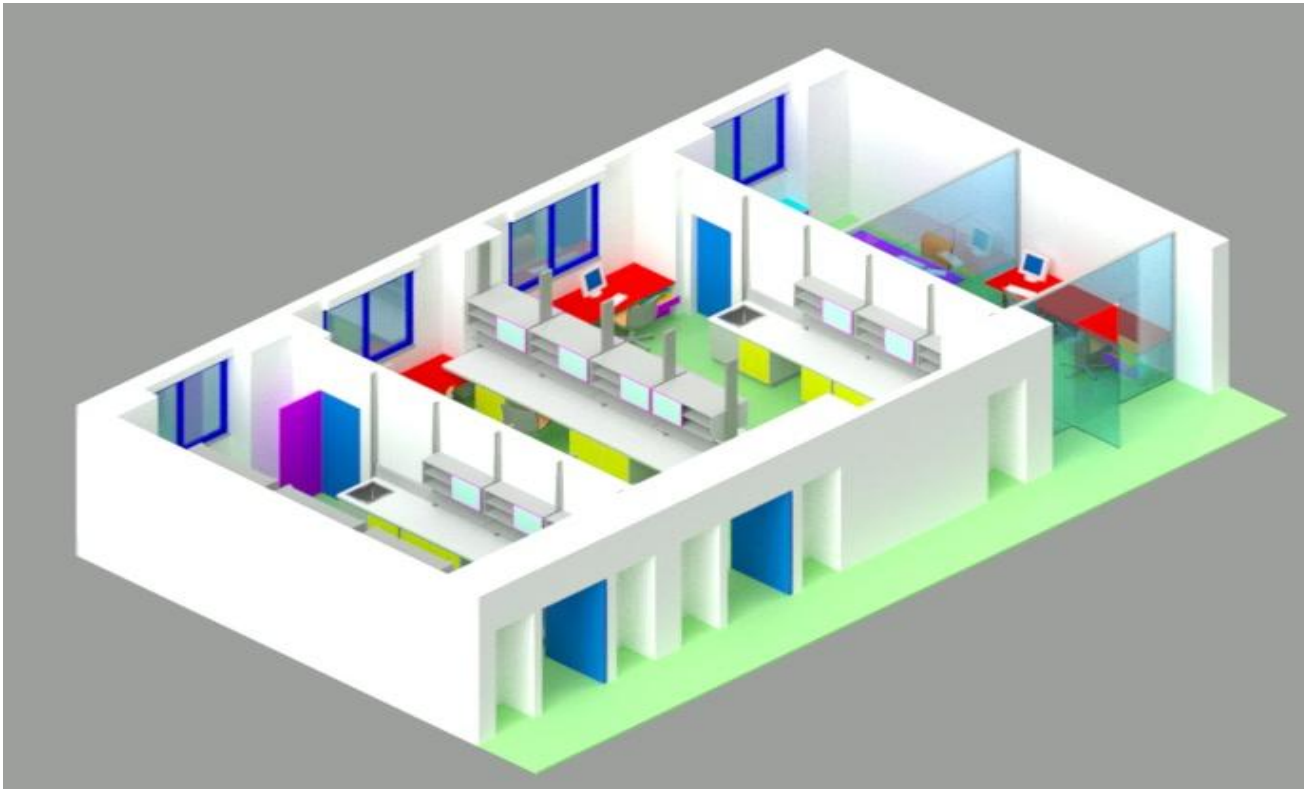
- Organizzati per curare e per fare ricerca
- Ci confrontiamo su controlli su cui viene poi valutata la nostra attività (Audit/Ispezioni)
- E' un'opportunità per molti malati
- Richiede un investimento di risorse qualificate
- Importante è cercare di migliorare la qualità della ricerca senza aumentare la burocrazia

Conclusioni sulla Fase 1 in Oncoematologia al Meyer

- Coinvolgimento di tutto il personale
- Maggiore consapevolezza dei ruoli del personale
- Evidente effetto positivo di crescita su tutto il resto della struttura sanitaria
- Le ispezioni GCP di verifica sono state una grande opportunità di confronto e di avanzamento nel percorso
- La Fase 1 è oramai inserita nell'insieme del percorso terapeutico

Centro di Eccellenza Oncologia e Ematologia Pediatrica

Laboratorio di Ricerca



Cubo 3

+

3 stanze al Cubo 2

Man at work



shutterstock.com • 1360749845



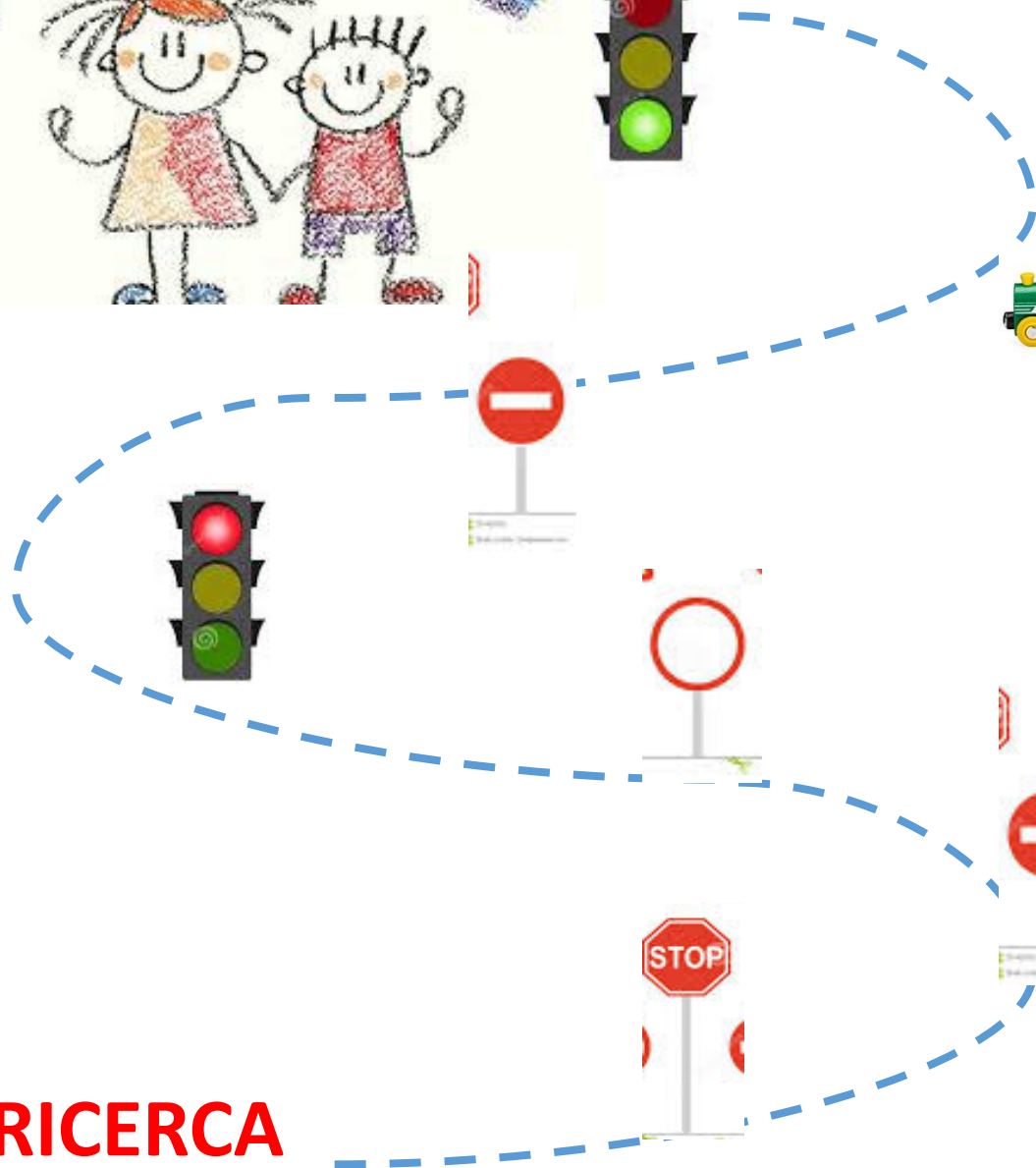
shutterstock.com • 1040044630



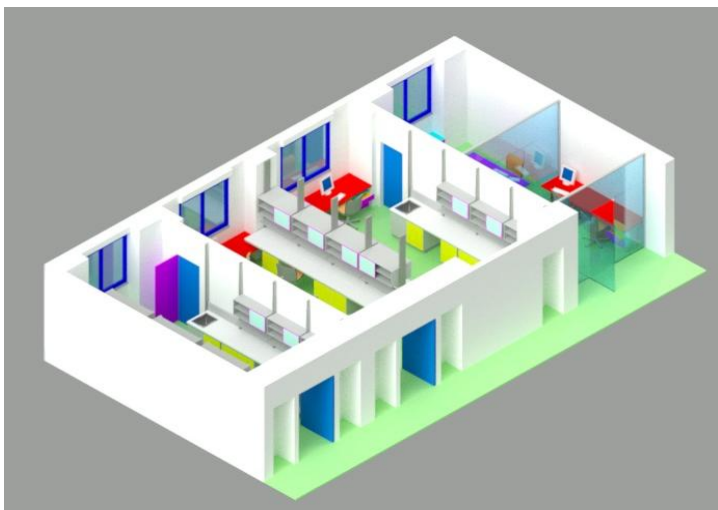
shutterstock.com • 1040044630



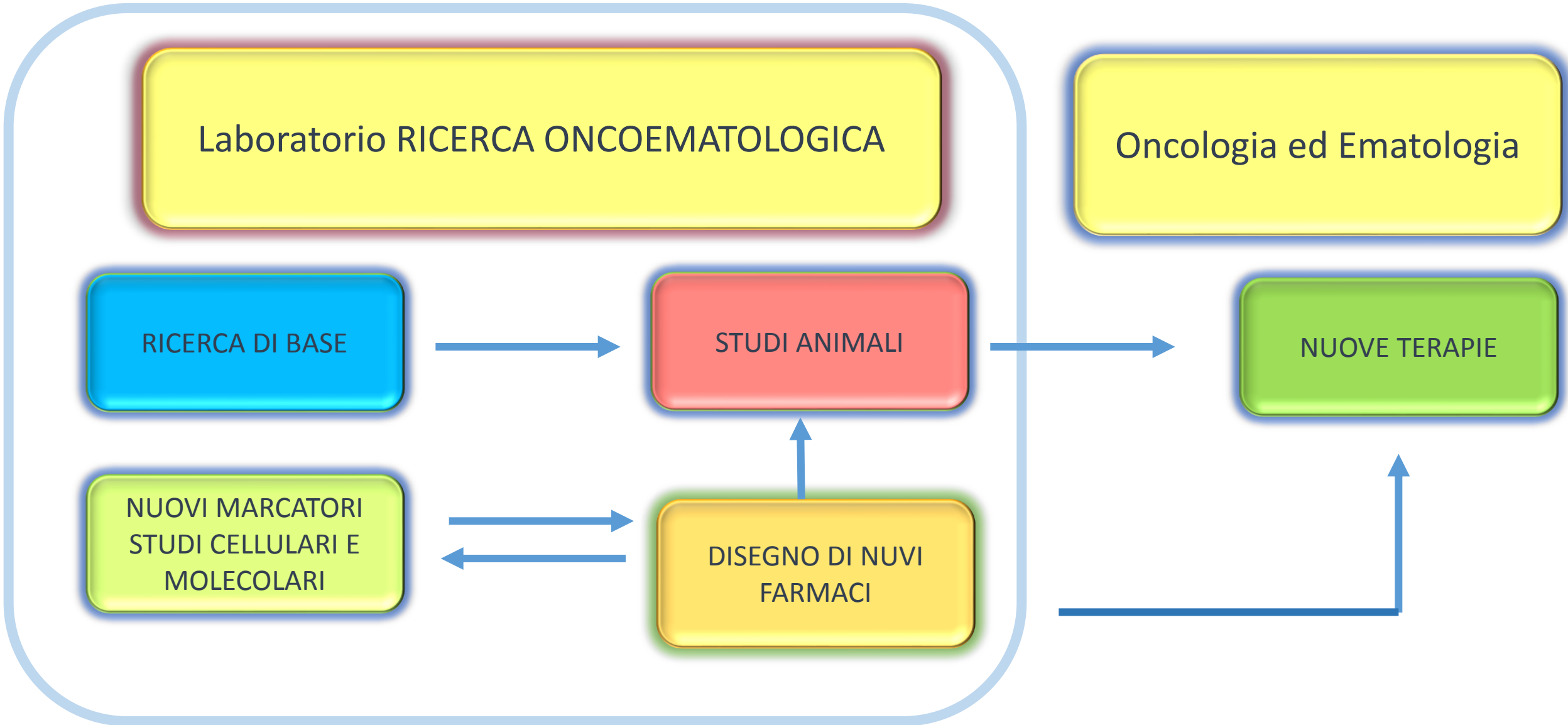
TERAPIA



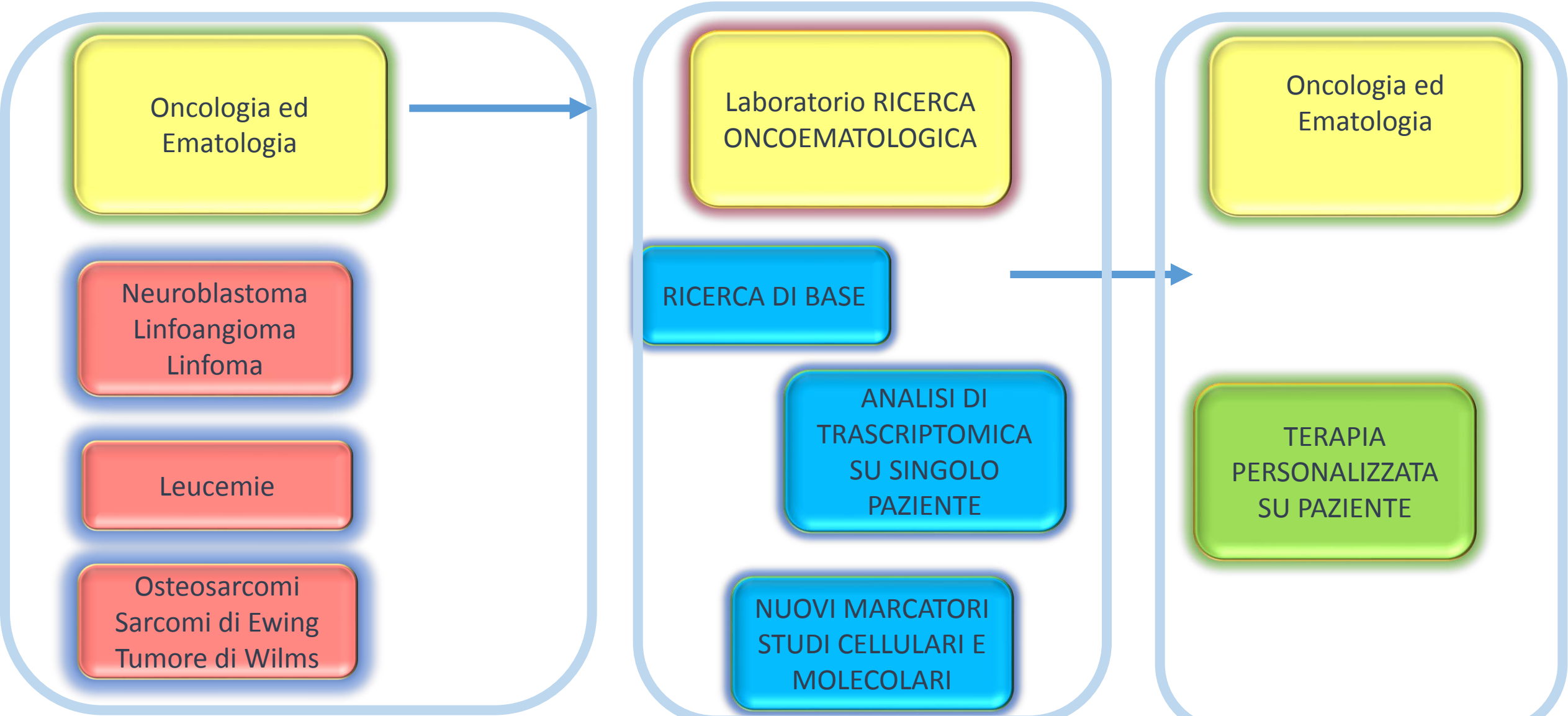
RICERCA



Dalla ricerca di base al paziente

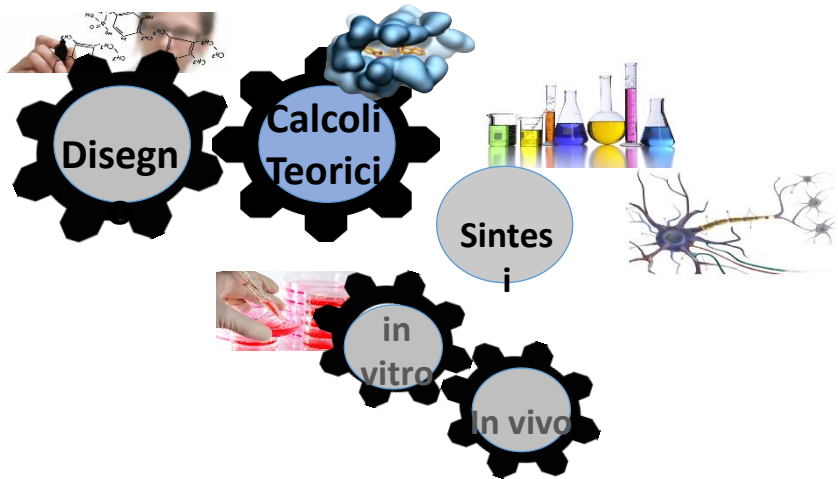


Dal paziente alla terapia personalizzata

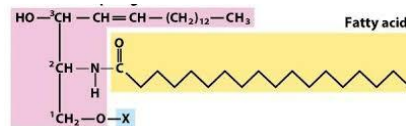


Projects

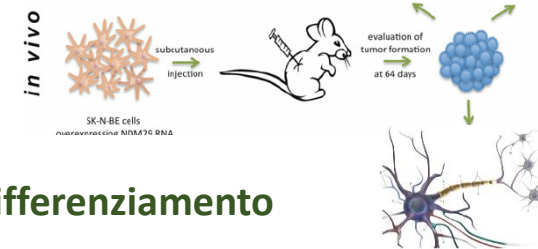
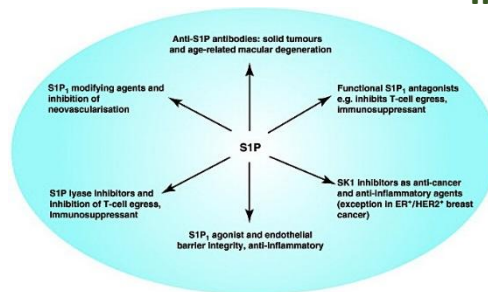
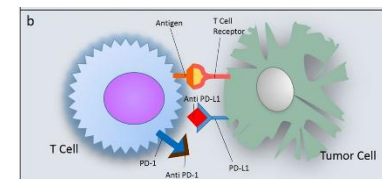
Sintesi di nuove molecole antitumorali



Studio degli sfingolipidi bioattivi nel Neuroblastoma

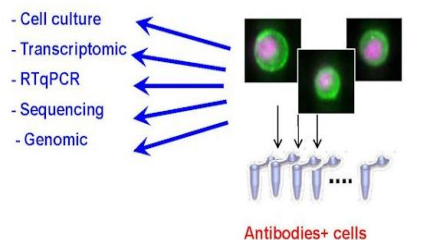
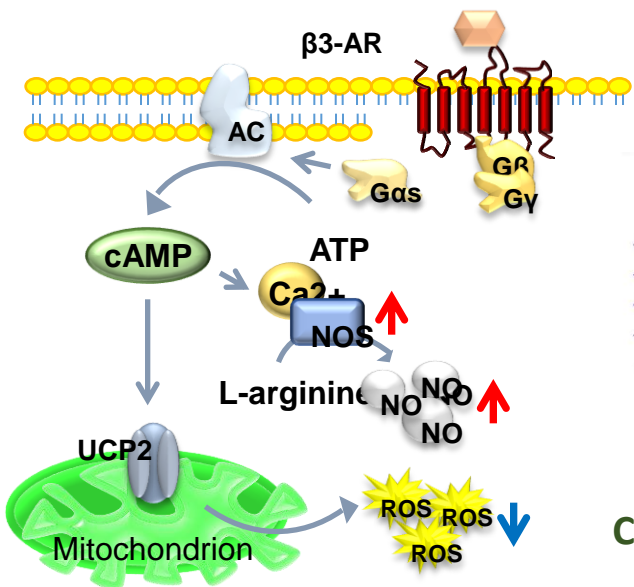


Immunoterapia



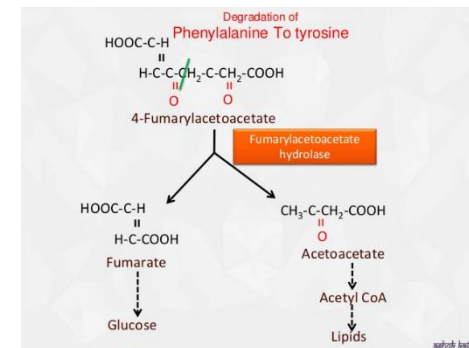
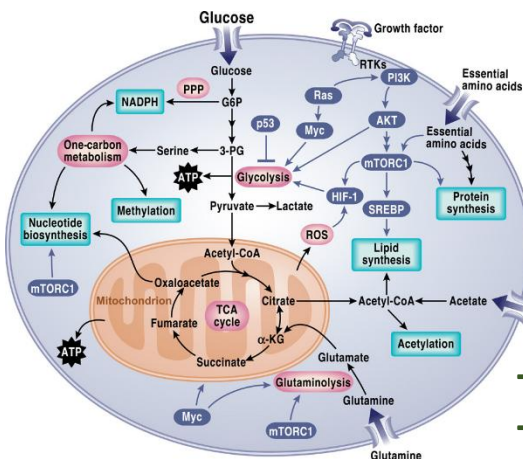
Differenziamento

Studio del recettore β3 adrenergico nei tumori



CTC in Sarcoma di Ewing

Studio del Metabolismo nella cellula tumorale



References

β 3-adrenoreceptor blockade reduces tumor growth and increases neuronal differentiation in neuroblastoma via SK2/S1P₂ modulation.

Bruno G, Cencetti F, Pini A, Tondo A, Cuzzubbo D, Fontani F, Strinna V, Buccoliero AM, Casazza G, Donati C, Filippi L, Bruni P, Favre C, Calvani M. Oncogene. 2019 Sep 2. doi: 10.1038/s41388-019-0993-1. [Epub ahead of print]

β 3-Adrenoreceptor Activity Limits Apigenin Efficacy in Ewing Sarcoma Cells: A Dual Approach to Prevent Cell Survival.

Pasha A, Vignoli M, Subbiani A, Nocentini A, Selleri S, Gratteri P, Dabraio A, Casini T, Filippi L, Fotzi I, Favre C, Calvani M. Int J Mol Sci. 2019 Apr 30;20(9). pii: E2149. doi: 10.3390/ijms20092149.

Antioxidant Nutraceutical approach to Ewing Sarcoma: Where is the Trap?

Maura Calvani and Claudio Favre, Biomedical Journal of Scientific & Technical Research 2019

Massive Presentation of Circulating Tumor Cells in Localized Ewing Sarcoma with no Sign of Metastatic Spreading: A Case Report

Angela Tamburini¹, Giovanni Beltrami², Perla Scalini¹, Marina Vignoli^{1,3}, Lara Perrone⁴, Stefania Cardellicchio¹, Marinella Veltroni¹, Annamaria Buccoliero⁵, Cecilia Cecchi¹, Tommaso Casini¹, Maura Calvani^{1#} and Claudio Favre^{1*#} J Cancer Sci Ther/Vol.11.5 141(2019), Vol 11(5)

β ₃-Adrenoceptor as a potential immuno-suppressor agent in melanoma.

Calvani M, Bruno G, Dal Monte M, Nassini R, Fontani F, Casini A, Cavallini L, Becatti M, Bianchini F, De Logu F, Forni G, la Marca G, Calorini L, Bagnoli P, Chiarugi P, Pupi A, Azzari C, Geppetti P, Favre C, Filippi L. Br J Pharmacol. 2019 Jul;176(14):2509-2524. doi: 10.1111/bph.14660. Epub 2019 May 9.

β 3-Adrenoreceptors Control Mitochondrial Dormancy in Melanoma and Embryonic Stem Cells.

Calvani M, Cavallini L, Tondo A, Spinelli V, Ricci L, Pasha A, Bruno G, Buonvicino D, Bigagli E, Vignoli M, Bianchini F, Sartiani L, Lodovici M, Semeraro R, Fontani F, De Logu F, Dal Monte M, Chiarugi P, Favre C, Filippi L.

Oxid Med Cell Longev. 2018 Nov 13;2018:6816508. doi: 10.1155/2018/6816508. eCollection 2018.

PMID: 30538804

β -Adrenoceptors as drug targets in melanoma: novel preclinical evidence for a role of β ₃-adrenoceptors.

Dal Monte M, Calvani M, Cammalleri M, Favre C, Filippi L, Bagnoli P.

Br J Pharmacol. 2019 Jul;176(14):2496-2508. doi: 10.1111/bph.14552. Epub 2018 Dec 18. Review.

PMID: 30471093

Staff Medico

- Annalisa Tondo
- Angela Tamburini
- Tommaso Casini
- Veronica Tintori
- Marinella Veltroni
- Stefano Frenos
- Elena Sieni
- Eleonora Gambineri
- Stefania Cardellicchio
- Cecilia Cecchi
- Elena Chiocca
- Daniela Cuzzubbo
- Francesca Trevisan
- Perla Scalini
- Ilaria Fotzi
- Maria Chiara Sanvito
- Federica Carra

Data Manager

- Camilla Rosa

Coordinatore Infermieristico

- Elena Ciriello

GRAZIE.....



Staff medico CROP :

- Oncoematologia Pediatrica Pisa
G.Casazza
- Oncologia Pediatrica Siena
S. Grosso

Staff Laboratorio

Maura Calvani

- Gennaro Bruno
- Marina Vignoli
- Amanda Pasha
- Annalisa Dabraio
- Angela Subbiano
- Veronica De Gregorio

Iacopo Sardi

- Anna Lisa Iorio
- Martina Da Ros
- Veronica De Gregorio

Elena Sieni

- MariaLuisa Coniglio
- Daniela Balasco

Eleonora Gambineri

- Sara Ciullini

Rendiamo migliore il loro FUTURO!!!



Grazie per l'attenzione

*Considerate la vostra semenza:
fatti non foste a viver come bruti,
ma per seguir virtute e canoscenza.*

Dante, Inferno (vv. 112-120)

