

s.c. Oncologia medica A

Suscettibilità al melanoma in Liguria: caratterizzazione di genotipi a rischio come possibile fattore predittivo per lo sviluppo e la progressione di melanoma

Linea di ricerca: 1 – Prevenzione e cancerogenesi

Programma: d - Prevenzione secondaria e valutazione/gestione del rischio individuale di cancro

Responsabile scientifico: Paola Queirolo

Altro personale della struttura partecipante al progetto: Graziano Caltabiano, Antonella Marasco, Marco Grosso

Anno di inizio: 2009

Durata: 36 mesi

Parole chiave: melanoma ereditario in Liguria; CDKN2A; MC1R; melanoma multiplo; prevenzione

Altre strutture IST partecipanti: s.c. Chirurgia plastica e ricostruttiva (P.L. Santi), s.s. Epidemiologia descrittiva: Registro Tumori (M. Vercelli); s.s. Prevenzione secondaria e screening (L. Bonelli)

Altri Enti coinvolti: DOBIG, Servizio di Genetica, Università di Genova (G. Bianchi-Scarrà); A.O. San Martino, Genova; Ospedale Galliera, Genova

Tipologia progetto: clinico-epidemiologica osservazionale

Area di interesse: prevenzione primaria/secondaria

Soggetti cofinanziatori: Commissione Europea

Background

La presenza di una storia familiare positiva è il principale fattore di rischio per il melanoma (Kefford RF et al., 1999; Hemminki K et al., 2003) e, secondo dati internazionali, il 25-50% delle famiglie di melanoma con tre o più affetti porta mutazioni germinali a carico della regione codificante del gene CDKN2A (Goldstein AM et al, 2006). Tale gene è localizzato nella regione 9p21 e codifica per due proteine con azione di oncosoppressori: la p16, che è coinvolta nella regolazione del ciclo cellulare come inibitore delle chinasi ciclino-dipendenti CDK4 e CDK6, e la p14ARF (prodotto di uno splicing alternativo con l'esone 1 beta), che è coinvolta nella stabilizzazione di p53. Sono noti altri due geni di suscettibilità primaria al melanoma, CDK4 (12p) (Rizos H et al, 2001), che codifica per la proteina bersaglio di p16, e un ulteriore gene che segrega con il locus 1p22 (D1S430-D12664), di cui è in corso la mappatura fine (Gillanders E et al, 2003; Walker GJ et al, 2004). Un'analisi effettuata nel triennio precedente attraverso uno studio cooperativo tra il nostro centro e altri centri su famiglie selezionate con i criteri SIGUONC per l'invio alla consulenza e il test diagnostico molecolare (in collaborazione con il Dipartimento di Biologia Oncologia e Genetica dell'Università di Genova) ha mostrato un 33% di mutazione in CDKN2A a carico delle famiglie studiate selezionate per avere due o più affetti. Si è visto che i pazienti appartenenti a famiglie con mutazione avevano un'età di esordio inferiore a quelli appartenenti a famiglie senza mutazione e che, tra i casi con mutazione il 23% sviluppava melanoma multiplo rispetto al 9% nei singoli. La frequenza di mutazione aumenta con il numero di pazienti con melanoma multiplo e raggiunge il 100% nelle famiglie con due o più casi di melanoma multiplo, confermando che il numero di casi con melanoma multiplo aumenta la probabilità di identificare una mutazione germinale in CDKN2A (Bruno et al, 2009).

Il gene altamente polimorfico per il recettore dell'a-MSH (MC1R), correlato al fenotipo dell'individuo, è stato descritto come gene candidato a basso rischio e modificatore della penetranza in portatori di mutazione in CDKN2A.

In un recente studio abbiamo valutato il contributo delle mutazioni germinali in CDKN2A in 398 melanomi singoli vs 95 multipli e trovato una frequenza di mutazione totale del 15,2% , 4 volte più alta nei multipli rispetto ai singoli. La probabilità di identificare mutazioni aumenta in presenza di storia familiare e più giovane età d'esordio nei melanomi multipli. Rispetto ai casi singoli, il rischio di portare mutazioni aumenta con il numero di lesioni nei casi multipli, indipendentemente dalla storia familiare. E' stato analizzato anche il ruolo di MC1R come modificatore del rischio di sviluppare melanoma multiplo, rispetto a singolo e come modificatore della penetranza delle mutazioni in CDKN2A. Nei casi multipli si è verificato che il numero di varianti in MC1R aumenta il rischio di sviluppare il melanoma. Inoltre si è visto che non esiste interazione tra MC1R e mutazioni in CDKN2A nella nostra popolazione, contrariamente a quanto avviene in altre. L'alta frequenza di mutazione nei melanomi multipli, anche indipendentemente dalla storia familiare si è mostrata rilevante per la consulenza genetica e il test molecolare nella nostra popolazione (Pastorino et al, 2008). Ancora da chiarire rimane il ruolo di varianti osservate nella zona non codificante del gene CDKN2A, per le quali non sono ancora stati sviluppati test funzionali appropriati.

Inoltre non è stato ancora valutato quale sia nella nostra popolazione il rischio conferito dalle varianti in MC1R in una casistica consecutivamente raccolta all'interno di uno studio caso-controllo.

Le varianti ad oggi descritte nei geni principali di suscettibilità o nei geni che conferiscono basso rischio quali MC1R non giustificano tuttavia la totalità dei casi con suscettibilità genetica . Pertanto risulta importante continuare a selezionare casistica arricchita per familiarità, presenza di melanoma multiplo e età di diagnosi giovanile per studi di associazione Genome Wide che identifichino aplotipi a rischio e permettano, in un futuro, di correlare questi aplotipi con l'eventuale ricaduta della malattia.

Allo scopo di identificare nuovi alleli che conferiscano basso rischio è stata condotta un'analisi genome-wide, all'interno del Consorzio internazionale per lo studio della genetica del melanoma (GenoMel) che ha permesso di

Consuntivo 2010 - Programmazione 2011

evidenziare 3 nuovi loci responsabili della suscettibilità, in una casistica internazionale di soggetti a predisposizione genetica composta da 1650 melanomi familiari (CDKN2A negativi), multipli e a bassa età di insorgenza e 4336 controlli. Lo studio è stato replicato in due casistiche indipendenti (caso-controllo), su base di popolazione, di 1149 casi e 964 controlli e 1163 casi e 903 controlli.

Tali loci contengono il già descritto MC1R, il gene per la Tirosinasi, associati con la pigmentazione, la presenza di lentiggini e la sensibilità al sole, noti fattori di rischio, e un nuovo locus sul 9p21 (fiancheggiante CDKN2A e CDKN2B) e adiacente a MTAP, mai descritto per la presenza di varianti comuni associate al rischio di melanoma. L'analisi inoltre conferma anche il coinvolgimento del locus 20q11.22 contenente un altro gene coinvolto nella pigmentazione ASIP, recentemente descritto in una casistica indipendente, così come due loci identificati in uno studio parallelo per essere associati al numero dei nei (uno sovrapponibile al cromosoma 9 e un altro nuovo al cromosoma 22) (Bishop et al, 2009; Falchi et al, 2009).

Nonostante le variazioni nelle frequenze alleliche tra le varie casistiche si osserva un'alta omogeneità di effetto tra le varie popolazioni di origine Europea, viventi a differenti latitudini e con grandi differenze di esposizione solare, che contribuisce indipendentemente al rischio di melanoma. Dal momento che lo studio ha il potere di identificare varianti che conferiscano un $OR > 1.5$ è improbabile che ci siano altri comuni SNPs con un'alta associazione con il melanoma, pertanto questo dato ha implicazioni importanti nella comprensione e formulazione di un modello complesso della suscettibilità al melanoma, che coinvolge un'associazione anche con il numero dei nei (Falchi et al, 2009).

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

Il presente progetto, che utilizza come premesse i risultati del precedente, si propone come obiettivo principale la valutazione della ricaduta sulla prevenzione dell'analisi molecolare per i geni ad alta suscettibilità (CDKN2A, CDK4) per tutti i casi liguri di melanoma con storia familiare di altri melanomi o con caratteristiche tipiche delle forme ereditarie (melanomi multipli, età di esordio giovanile, presenza di altre neoplasie nel probando o in parenti di 1° grado).

L'analisi funzionale di varianti ad oggi a significato non noto e l'identificazione di aplotipi che conferiscono un basso rischio, dovuti ad alleli a geni noti (quali MC1R) o in fase di identificazione (dagli studi Genome Wide in corso) permetterà di definire meglio il rischio individuale di ciascun individuo, ad oggi relativo solo a mutazioni in geni ad alta penetranza (CDKN2A, CDK4) con l'elaborazione di un test genetico che in futuro tenga in considerazione tutte queste informazioni.

Obiettivo secondario sarà quello di valutare, in studi collaborativi internazionali, come questi aplotipi influenzino la ricaduta della malattia e l'associazione con il numero dei nei come significativo fattore di rischio.

Impatto assistenziale certo o potenziale

Identificazione e caratterizzazione molecolare delle categorie di pazienti costitutivamente a rischio: melanoma familiare, melanoma multiplo, melanoma ad età di esordio giovanile.

Risultati e prodotti 2010

Nell'arco dell'anno 2010 sono stati reclutati 44 casi di melanoma afferenti al nostro centro tra cui 5 familiari, 6 con diagnosi di melanoma multiplo, 4 con diagnosi di melanoma oculare e 14 con età di diagnosi inferiore ai 40 anni.

Oltre al prelievo di sangue si è proceduto alla compilazione di un'intervista standardizzata che include, oltre alla storia familiare, un'anamnesi dei fattori di rischio e ad una visita dermatologica allo scopo di definire e documentare il numero e la tipologia dei nevi.

Quattro pazienti presentavano un parente in primo grado affetto da tumore pancreatico, 2 presentavano un parente in primo grado affetto da tumore alla mammella. Il gene CDKN2A si è rivelato mutato in 4 pazienti, di cui due familiari e due affetti da melanoma multiplo. Non sono state trovate varianti a significato incerto nelle zone non codificanti.

Lo studio sulla funzionalità di tali mutazioni descritto nel 2009 è stato recentemente pubblicato (Bisio et al, 2010) e continua con l'analisi di nuove varianti eventualmente identificate.

I pazienti sono stati tipizzati anche per MC1R. La rielaborazione dell'informazione relativa al rischio conferito dalle varianti in MC1R nella casistica reclutata nell'ambito dello studio caso-controllo è stata conclusa durante quest'anno ed è attualmente in fase di elaborazione un manoscritto. Quest'analisi si è basata sullo studio di 439 pazienti (e relativi controlli) di cui 49 portatori di mutazione in CDKN2A. La numerosità dei pazienti portatori di mutazione ci ha permesso di confrontare per la prima volta le differenze tra mutati e non mutati in termini di fattori di rischio relativi all'esposizione ambientale e alle caratteristiche fenotipiche del paziente ed alle variazioni in MC1R. Dallo studio emerge che MC1R aumenta il rischio nei pazienti non portatori di mutazione come altri fattori di rischio noti (scottature solari, esposizione lavorativa, numero e tipologia di nevi), mentre nei casi portatori di mutazione non modifica il rischio in maniera significativa. Questo dato differisce dall'osservazione effettuata nella casistica internazionale, come confermato da uno studio collaborativo di GenoMEI, effettuato solo sui casi familiari portatori di mutazione (Demenais et al, 2010) ed evidenzia le caratteristiche peculiari della nostra popolazione. Ha anche un potenziale impatto assistenziale per una migliore definizione e comunicazione del rischio di sviluppare melanoma nei pazienti portatori di mutazione.

Pubblicazioni

Bisio A.-Nasti S.-Jordan J.-Gargiulo S.-Pastorino L.-Provenzano A.- Quattrone A.-Queirolo P.-Bianchi Scarra' G.-Ghiorzo P.-Inga A.

Functional analysis of CDKN2A/p16INK4a 5'/UTR variants predisposing to melanoma.

Hum. Mol. Genet. 19(8):1479/1491, 2010

Consuntivo 2010 - Programmazione 2011

Deménais F.-Mohamdi H.-Chaudru V.-Goldstein A.-Newton Bishop J.- Bishop D.-Kanetsky P.-Hayward N.-Gillanders E.-Elder D.-Avril M.- Azizi E.-Van Belle P.-Bergman W.-Bianchi Scarra' G.-Bressac De Paillerets B.-Calista D.-Carrera C.-Hansson J.-Harland M.-Hogg D.- Hoiom V.-Holland E.-Ingvar C.-Landi M.-Lang J.-Mackie R.-Mann G.- Ming M.- Njauw C.-Olsson H.-Palmer J.-Pastorino L.-Puig S.- Randerson Moor J.-Stark M.-Tsao H.-Tucker M.-Van Der Velden P.- Yang X.-Gruis N.-Melanoma Genetics Consortium-Queirolo P.

Association of MC1R variants and host phenotypes with melanoma risk in CDKN2A mutation carriers: a GenoMEL study.

J. Natl. Cancer Inst. 102(20):1568/1583, 2010

Attività previste e risultati attesi nel 2011

A) Continuazione del reclutamento di casi di melanoma afferenti al nostro centro per proseguire lo studio caso-controllo e la compilazione di un'intervista standardizzata che include, oltre alla storia familiare, un'anamnesi dei fattori di rischio, inclusa l'esposizione solare, e una visita dermatologica allo scopo di definire e documentare il numero e la tipologia dei nevi.

B) Aggiornamento e compilazione di un database con le informazioni relative allo stadio, al follow-up, all'eventuale ricaduta della malattia e alla terapia.

Le informazioni saranno utilizzate a lungo termine per la correlazione con eventuali genotipi a rischio ritrovati tramite analisi mutazionale dei principali geni candidati e di nuovi geni candidati, che conferiscono basso rischio, ritrovati in seguito alle analisi collaborative genome-wide. Lo scopo finale sarà di contribuire all'identificazione di geni e di esposizioni ambientali che possano predire il rischio di ricaduta della malattia.

Ricerca di nuovi marcatori prognostici e predittivi della risposta all'immunoterapia nei pazienti con melanoma cutaneo e della corioide

Linea di ricerca: 3 – Ottimizzazione e personalizzazione delle strategie terapeutiche

Programma: b - Predizione della risposta ai trattamenti, inclusa la possibilità di valutare precocemente la risposta definitiva

Responsabile scientifico: Paola Queirolo

Altro personale della struttura partecipante al progetto: Antonella Marasco, Simone Callegari, Marco Grosso, Graziano Caltabiano

Anno di inizio: 2009

Durata: 36 mesi

Parole chiave: anti-CTLA4; polimorfismi genici; sintenina; fattori prognostici

Altre strutture IST partecipanti: s.c. Genetica ed epigenetica dei tumori (M.P. Pistillo); s.c. Immunologia (M. C. Mingari); s.c. Terapia immunologica (S. Ferrini); s.c. Patologia molecolare integrata (U. Pfeffer)

Altri Enti coinvolti: NIBT, network italiano per la bioterapia dei tumori (G. Parmiani); Laboratorio di Immunologia e Bioterapia, Dipartimento di Patologia Umana, Università di Messina (G. Ferlazzo)

Tipologia progetto: clinico-epidemiologica osservazionale

Area di interesse: terapeutica/quality of life

Soggetti cofinanziatori: Alleanza Contro il Cancro; Bristol Mayer; Merck; EORTC; Regione Liguria

Background

L'incidenza di melanoma risulta in continuo aumento in tutto il mondo. Anche i melanomi nei primi stadi di malattia trattati con chirurgia spesso sviluppano una ripresa di malattia linfonodale e o a distanza. Il nostro Istituto rappresenta un punto di riferimento per lo studio e la cura del melanoma con una media di 300 nuovi casi all'anno.

Storicamente il melanoma è considerato una malattia chirurgica. Poco efficaci si sono dimostrati gli schemi di chemioterapia applicati nelle altre patologie oncologiche ma parallelamente si è studiato il potenziale immunogeno di tale neoplasia e ad oggi sono noti numerosi antigeni tumorali in grado di evocare una risposta immune nell'ospite. Numerosi farmaci nell'ambito dell'immunoterapia sono attualmente disponibili per studi fase II e III nel melanoma adjuvante e metastatico. In particolare negli ultimi 3 anni abbiamo condotto studi preclinici e di attività (fase II) con targeted therapies a bersaglio immunologico quali antiCTLA4 e anti CD137. Nei prossimi 3 anni oltre a tali anticorpi avremo la possibilità di condurre studi di fase II con targeted therapies che agiscono su vie della replicazione cellulare quali quella delle MAP chinasi (anti BRAF) e inibitori dell'angiogenesi (Bevacizumab). I risultati degli studi che utilizzano farmaci anti-CTLA-4 nel melanoma hanno già fornito risultati incoraggianti. Nello studio internazionale, cui abbiamo partecipato, presentato da O' Day all'ASCO del 2008, si sono viste risposte obiettive e stabilizzazioni di malattia anche molto durature. Quello che ancora non ci è stato possibile comprendere dagli studi svolti è l'individuazione di fattori predittivi di risposta al trattamento. Risulta quindi di particolare importanza cercare nuovi "markers" immunologici/genetici in grado di correlare con la suscettibilità individuale al trattamento per poter selezionare la popolazione di pazienti che possa rispondere alle targeted therapies. Sono inoltre di rinnovato interesse e oggetto di studio in un nuovo protocollo NIBT, i vaccini peptidici. La costituzione di un gruppo che si occuperà del solo

Consuntivo 2010 - Programmazione 2011

monitoraggio immunologico dei pazienti in trattamento potrà correlare il tipo di risposta al trattamento con l'assetto immunitario del paziente.

Precedenti studi hanno dimostrato che il recettore CTLA-4 (CD152) gioca un ruolo fondamentale nel controllo della risposta immune T-mediata in quanto principale recettore deputato alla regolazione negativa dell'attivazione e funzione effettrice dei linfociti T. CTLA-4 è una glicoproteina di membrana appartenente alla superfamiglia delle immunoglobuline espressa principalmente sui linfociti T attivati (sia CD4+ che CD8+) e costitutivamente su di un subset di cellule T regolatorie (Tregs) coinvolte nel controllo dell'immunità antitumorale e nell'autoimmunità. La funzione inibitoria di CTLA-4 si esplica dopo interazione con i suoi ligandi, le molecole B7 (CD80/CD86) espresse sulle cellule presentanti l'antigene (APC), che porta a inibizione della produzione di citochine (IL-2, IFN- γ , IL-4), dell'espressione del recettore per IL-2 e della progressione del ciclo cellulare. Date le funzioni inibitorie di CTLA-4, alterazioni della sua espressione o attività possono avere un ruolo cruciale nel determinare il destino della risposta immune (down regolazione/attivazione). Numerosi studi mostrano che specifici polimorfismi genici di CTLA-4 sono responsabili della sua ridotta funzionalità conferendo suscettibilità alle malattie autoimmuni. Alcuni di questi polimorfismi genici mostrano un ruolo significativo come fattori di suscettibilità anche a tumori ematologici e a tumori solidi.

In collaborazione con i servizi di Terapia immunologica e Patologia molecolare integrata stiamo studiando nuovi biomarcatori di progressione nel melanoma cutaneo e uveale. Le proteine candidate per questo studio verranno selezionate sulla base di analisi comparativa del pattern di gene expression profiling di melanomi cutanei (reperibili on line) e uveali (dati prodotti dal Dott. Ulrich Pfeffer – Patologia molecolare integrata IST) e del secretoma di linee di melanoma coltivate in vitro. Un primo candidato da noi identificato in studi preliminari in silico o in vitro è la proteina intracellulare sintenina, codificata dal gene SDCBP (syndecan binding protein). Tale gene è altamente espresso nella maggior parte dei melanomi uveali studiati per gene expression profiling dal Dr. Ulrich Pfeffer. Abbiamo anche dimostrato la presenza di proteina sintenina in linee di melanoma uveale in vitro mediante test di immunofluorescenza e la sintenina è stata rilevata mediante western blot nel surnatante di linee di 4/4 melanoma uveale. Nel loro insieme questi dati suggeriscono che sintenina sia una proteina rilasciata dal melanoma uveale ed un potenziale biomarcatore.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

Come obiettivo generale si intendono studiare nuovi marcatori di prognosi e predittivi della risposta all'immunoterapia in pazienti affetti da melanoma cutaneo e della corioide. Nell'ambito dei numerosi studi clinici di fase II e III in programma nei prossimi tre anni si svilupperanno gli obiettivi secondari del progetto. In particolare obiettivi secondari del progetto saranno:

- Caratterizzazione delle cellule staminali tumorali del melanoma uveale, e cutaneo e l'individuazione di molecole specifiche coinvolte nelle metastasi e nell'immuno-evasione.
- Identificazione di proteine candidate a rappresentare biomarcatori nel melanoma uveale e cutaneo.

Si intende poi investigare il possibile ruolo dei polimorfismi genici di CTLA-4 come fattori di rischio costitutivo e il loro significato prognostico nel melanoma cutaneo. Poiché i polimorfismi genici di CTLA-4 sono direttamente implicati nel regolare la funzionalità dei linfociti T riveste particolare importanza identificarli in pazienti di melanoma cutaneo in quanto tale neoplasia è altamente immunogenica con prevalente coinvolgimento della risposta T-mediata.

Poiché la presenza di infiltrato linfocitario T è conseguente all'attivazione linfocitaria, che può essere a sua volta influenzata dai polimorfismi genici di CTLA-4, uno degli obiettivi del progetto è correlare i polimorfismi con la presenza e il tipo di infiltrato TILs nelle lesioni di pazienti con melanoma e valutarne l'impatto sull'andamento clinico della neoplasia e sulla sopravvivenza. Altro obiettivo è valutare il significato predittivo dei polimorfismi genici di CTLA-4 nella risposta alle terapie immunologiche del melanoma. Anticorpi monoclonali anti-CTLA-4 sono attualmente impiegati in trials clinici in pazienti con melanoma metastatico. Tali anticorpi interferiscono con il legame di CTLA-4 ai suoi ligandi con l'obiettivo di bloccare gli effetti inibitori sui linfociti T e potenziare la risposta immune contro il tumore attraverso:

a) la deplezione o il blocco delle cellule Tregs o in alternativa b) l'attivazione di cellule T effettrici CD4+ e/o CD8+.

Poiché le risposte cliniche al trattamento con anticorpi anti-CTLA-4 sono variabili (non tutti i pazienti trattati rispondono o rispondono in tempi e modi differenti) assume grande interesse sviluppare metodiche per predire e migliorare l'efficacia dell'immunoterapia. Tra questi riveste particolare importanza la determinazione dei polimorfismi genici di CTLA-4 nei pazienti che devono essere trattati. In studi svolti su pazienti affetti da melanoma, è stata infatti riscontrata una correlazione tra i polimorfismi di CTLA-4 che sono associati alla suscettibilità alle malattie autoimmuni, e un'aumentata risposta a terapie con anticorpi anti-CTLA-4, come evidenziato dall'aumento delle reazioni autoimmuni e dalla ridotta progressione della malattia nei pazienti trattati. Al contrario, alleli polimorfici associati ad una ridotta suscettibilità a disordini autoimmuni (alleli quindi protettivi per le malattie autoimmuni), correlano con una ridotta risposta alle terapie bloccanti CTLA-4, come evidenziato dalla riduzione delle reazioni autoimmuni e progressione della malattia nei pazienti trattati. Questi risultati focalizzano quindi l'attenzione su un meccanismo di regolazione delle funzioni dei linfociti T mediato dal recettore inibitorio CTLA-4 da tenere in considerazione nella ricerca di nuove strategie terapeutiche nel melanoma.

Impatto assistenziale certo o potenziale

L'impiego di immunoterapie nel melanoma in fase avanzata con il tentativo di individuare fattori predittivi della risposta permetterà di selezionare a priori i pazienti che possono beneficiare di un trattamento, nel tentativo di personalizzazione le terapie antitumorali.

Lo studio di cellule staminali e nuovi biomarcatori nel melanoma permetterà un più agevole controllo nel tempo della malattia con ricaduta sulla qualità di vita del paziente con melanoma.

Per quanto concerne il melanoma della corioide, il nostro Istituto potrà offrire un protocollo nel trattamento della fase avanzata proposto per la prima volta nella realtà Italiana.

Risultati e prodotti 2010

Nell'ambito del programma di ricerca sui polimorfismi genici, nel 2010 sono state caratterizzate, mediante Multiplex Tetra-Primer ARMS-PCR, le varianti polimorfiche di 3 SNP del gene CTLA-4 (-318C>T, +49A>G, CT60 G>A) in 33 pazienti con melanoma cutaneo metastatico arruolati presso l'Oncologia medica A dell'IST. Sono stati raccolti i dati

Consuntivo 2010 - Programmazione 2011

inerenti le caratteristiche cliniche, istopatologiche e di follow up dei pazienti, con particolare riferimento alla risposta agli anticorpi Ipilimumab e Tremelimumab dei pazienti affetti da melanoma. E' stato quindi creato un database per la correlazione statistica delle frequenze genotipiche ed alleliche con i dati clinici e l'analisi è stata condotta anche in 180 donatori sani, confrontabili per età e sesso.

Nel corso del 2010 l'Oncologia medica A ha contribuito alla definitiva messa a punto della metodica di produzione vaccinica in GMP presso l'officina farmaceutica dell'Istituto, fornendo l'adeguato numero di campioni necessari per validare i processi di produzione. I pazienti hanno firmato un consenso informato, approvato nell'ambito del protocollo approvato dal Comitato Etico dell'IST per partecipare a tale sperimentazione.

I pazienti candidati alla vaccinazione con cellule autologhe sono stati valutati in circa 20 all'anno e riteniamo che, una volta approvato il protocollo di somministrazione sull'uomo, in 2 anni potrebbero essere ottenuti i dati di fattibilità, tossicità e attività del vaccino stesso in combinazione con interferone.

Il materiale biotico (costituito da metastasi ai tessuti molli e linfonodi regionali e o a distanza) dei pazienti entrati nel protocollo di ricerca traslazionale è stato poi valutato anche per lo studio della suscettibilità delle cellule di melanoma alle cellule Natural Killers e per lo studio delle cellule staminali del tumore, in collaborazione con la s.c. Immunologia (M.C. Mingari) e con il Laboratorio di Immunologia e Bioterapia dell'Università di Messina (G. Ferlazzo).

I pazienti arruolati nello studio pilota di produzione vaccinica, non potendo beneficiare del trattamento, sono entrati in altri protocolli di bioterapia attivi in Istituto che prevedono la somministrazione di: anti CTLA 4 in uso compassionevole; studio randomizzato Anti braf vs dacarbazina; Studio randomizzato Anti c-kit vs dacarbazina; vaccinazione con Prame Fase I-II.

I pazienti con sole metastasi linfonodali entrano in 2 studi randomizzati di immunoterapia:

- studio randomizzato di fase III di ipilimumab verso placebo
- studio randomizzato di fase III con Mage +ASCI vs placebo.

Pubblicazioni

Maio M.-Nicolay H.-Ascierto P.-Belardelli F.-Camerini R.-Colombo Ma.-Queirolo P.-Ridolfi R.-Russo V.-Fonsatti E.-Parmiani G.-Nibit

Seventh annual meeting of the Italian Network for Tumor Biotherapy (NIBIT), Siena, 1/3 October 2009.

Cancer Immunol. Immunother. 59:1895/1901, 2010

O'day S.-Maio M.-Chiarion Sileni V.-Gajewski T.-Pehamberger H.- Bondarenko I.-Queirolo P.-Lundgren L.-Mikhailov S.-Roman L.- Verschraegen C.-Humphrey R.-Ibrahim R.-De Pril V.-Hoos A.-Wolchok J.

Efficacy and safety of ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a multicenter single arm phase II study.

Ann. Oncol. 21:1712/1717, 2010

Del Vecchio M.-Mortarini R.-Canova S.-Di Guardo L.-Pimpinelli N.- Sertoli M.R.-Bedognetti D.-Queirolo P.-Morosini P.-Perrone T.- Bajetta E.-Anichini A.

Bevacizumab plus fotemustine as first line treatment in metastatic melanoma patients: clinical activity and modulation of angiogenesis and lymphangiogenesis factors.

Clin. Cancer Res. 16(23):5862/5872, 2010

Attività previste e risultati attesi nel 2011

Per quanto riguarda l'aspetto dei polimorfismi genici, si prevede di estendere l'analisi degli SNP di CTLA-4 (-318C>T, +49A>G, CT60 G>A) ad un numero maggiore di pazienti con melanoma cutaneo metastatico e di effettuare l'analisi statistica di correlazione con i dati clinico-patologici relativi a ciascun paziente. Si prevede inoltre di confrontare le frequenze genotipiche ed alleliche con quelle di controlli sani. Il protocollo già passato al Comitato etico IST è stato esteso all'IMI (Intergruppo Melanoma Italiano) per arruolare tutti i pazienti in protocollo con ipilimumab compassionate use (previsto nel 2011 l'arruolamento di 250 pazienti).

Inoltre, nel 2011 si proseguirà:

- nell'identificazione dei polimorfismi genici di CTLA-4 eventualmente coinvolti nella risposta individuale al trattamento con gli anticorpi anti-CTLA-4, Ipilimumab e Tremelimumab, in pazienti con melanoma metastatico e conseguente pubblicazione dei relativi dati

- in collaborazione con la Patologia molecolare integrata IST saranno analizzati i gene profiling degli ulteriori pazienti con melanoma della corioide operati nell'ambito del progetto approvato dalla Regione Liguria nel 2009 e coordinato dalla dott.ssa Queirolo (Oncologia medica A IST).

Il passo successivo, per i protocolli di immunoterapia, sarà quello di combinare anticorpi monoclonali immunomodulanti (Anti-ctla4) e altri farmaci a bersaglio molecolare che aumentano la risposta immune al tumore (antipd1, anti OX40, ecc.) con chemioterapia e/o vaccinazione sia essa peptidica che autologa (nel 2011 si prevede l'arruolamento di pazienti nel protocollo con vaccinazione PRAME di Glaxo).

Intensificazione dei regimi di chemioterapia in associazione agli agenti biologici nel carcinoma coloretale metastatico e ruolo della target therapy dopo progressione di malattia

Linea di ricerca: 3 - ottimizzazione e personalizzazione delle strategie terapeutiche

Programma: c - Innovazioni terapeutiche: sviluppo dalle fasi precoci, incluse le correlazioni biologiche, agli studi di efficacia, inclusa la verifica di applicabilità nella pratica clinica

Responsabile scientifico: Silvana Chiara

Consuntivo 2010 - Programmazione 2011

Altro personale della struttura partecipante al progetto: Claudia Sonaglio, Daniela Garbarino

Anno di inizio: 2009

Durata: 36 mesi

Parole chiave: carcinoma colon-retto; chemioterapia; target therapy; terapia I linea; terapia II linea; markers biologici

Altre strutture IST partecipanti: s.c. Anatomia e citoistologia patologica (M. Truini); s.c. Oncologia chirurgica (F. Cafiero)

Altri Enti coinvolti: Gruppo Oncologico Nord-Ovest - GONO, Oncologia Medica, Presidio Ospedaliero, Livorno (A. Falcone)

Tipologia progetto: clinico-epidemiologica sperimentale

Area di interesse: terapeutica/quality of life

Soggetti cofinanziatori: AIFA

Background

Attualmente, nel carcinoma del colon-retto avanzato, i pazienti vengono prognosticamente divisi per un trattamento di I linea in coloro che presentano una malattia aggressiva, ossia bulky disease, presenza di sintomi correlati alla neoplasia, lesioni limitate al parenchima epatico o polmonare potenzialmente resecabili solo dopo chemioterapia neoadiuvante, ed in coloro che presentano una malattia più indolente anche se diffusa o con comorbidità.

I recentissimi dati di studi di fase II e III con la combinazione di chemioterapici alla target therapy hanno permesso di ampliare le scelte terapeutiche soprattutto per quanto riguarda la prima linea. nella malattia aggressiva (Saltz, JCO 2008; Van Cutsem NEJM 2009; Bokemeyer, JCO 2009). In questo gruppo di pazienti la tendenza più accreditata è quella di utilizzare la combinazione di tutti gli agenti attivi upfront, vale a dire una doppietta chemioterapica (FOLFIRI o FOLFOX) in associazione con un agente biologico (bevacizumab o cetuximab) oppure una tripletta chemioterapica comprendente oxaliplatino, irinotecan e fluorouracile (FOLFOXIRI) sia per i risultati ottenuti in termini di risposta obiettiva e quindi di resecabilità, sia per l'incremento della progression-free survival che dell'overall survival.

La nostra linea di ricerca degli ultimi anni ha individuato lo schema FOLFOXIRI quale modalità di intensificare il trattamento del colon-retto metastatico, basandoci sul presupposto che l'aumento delle risposte obiettive si traduca in un incremento delle resezioni chirurgiche radicali delle metastasi, e sull'ipotesi che la somministrazione di tutti gli agenti chemioterapici attivi upfront si rifletta in un miglioramento della sopravvivenza (Falcone, JCO 2007; Masi, Ann Surg 2009). I risultati dello studio aggiornati ad un follow up mediano di 60.6 mesi, dimostrano che il trattamento è attivo (response rate: 60%), con un tasso di resezione chirurgica di seconda istanza pari al 15% (solo chirurgia epatica: 36%, ed efficace, con una progression-free-survival (PFS) mediana di 9.8 mesi, e una sopravvivenza globale (OS) mediana di 23.4 mesi, paragonabili a quelli ottenuti con l'impiego della doppietta classica in associazione all'agente biologico. Inoltre l'analisi per sottogruppi di pazienti a rischio differente ha dimostrato la superiorità di FOLFOXIRI rispetto al FOLFIRI in termini di PFS e OS anche nei pazienti che non sono stati sottoposti a chirurgia di seconda istanza, ribadendo un importante ruolo palliativo anche nella malattia aggressiva plurimetastatica (Falcone, WCGIC 2009). Successivamente, basandoci sui dati consolidati dell'efficacia dell'associazione chemioterapia e bevacizumab (Hurwitz, NEJM 2004; Saltz, JCO 2008; studio AVIRI, ASCO 2008), è stato disegnato uno studio di fase II con l'intento di valutare l'attività di FOLFOXIRI e bevacizumab. I risultati hanno dimostrato una notevole attività (response rate: 77%, disease control rate: 100%) nei 57 pazienti entrati in studio; 36% dei pazienti è stato sottoposto a chirurgia R0 sulle metastasi (43% nei casi di sole lesioni epatiche). Ad un follow up mediano di 20 mesi, la PFS mediana è 13.1+ mesi, mentre l'OS mediana non è stata ancora raggiunta (Masi, WCGIC, 2009).

Sulla base dell'evidenza dell'efficacia della combinazione FOLFIRI o FOLFOX e bevacizumab (Hurwitz, NEJM 2004; Saltz, JCO 2008), confermata anche in termini di tollerabilità dagli studi BRiTE e BEAT su un'ampia popolazione comprendente oltre 4000 pazienti (studio BRiTE e BEAT, ASCO 2008), dai risultati del nostro studio di fase III FOLFOXIRI vs FOLFIRI e del recente studio di fase II FOLFOXIRI e bevacizumab, si intende ora confrontare il regime di I linea standard FOLFIRI e bevacizumab con il braccio sperimentale FOLFOXIRI e bevacizumab.

Ad oggi, il ruolo della prosecuzione di bevacizumab in associazione con chemioterapia di II linea in pazienti già trattati con questo agente biologico in I linea, rimane controverso. A favore della prosecuzione di bevacizumab vi sono i dati desunti da due studi. Il primo è un'analisi retrospettiva dello studio di fase III IFL+ bevacizumab di Hurwitz, in cui si evince che il vantaggio in PFS e OS nei pazienti trattati con il farmaco anti-angiogenetico è indipendente dalla risposta clinica ottenuta (responders vs non-responders). Il secondo è un aggiornamento dei risultati dello studio osservazionale BRiTE in cui si dimostra che la prosecuzione di bevacizumab dopo la prima progressione in pazienti trattati in I linea con chemioterapia e bevacizumab è associata ad una maggior sopravvivenza (Grothey, ASCO 2007).

In considerazione anche dei costi del bevacizumab e dell'opportunità di evitare una prassi "empirica" di continuazione del farmaco dopo la progressione di malattia, è stato disegnato uno studio di fase III di chemioterapia di II linea con o senza bevacizumab in pazienti che sono progrediti dopo chemioterapia di I linea comprendente bevacizumab.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

Obiettivo primario:

- 1) comparare la PFS della combinazione FOLFOXIRI e bevacizumab vs FOLFIRI e bevacizumab somministrati come trattamento di I linea;
- 2) comparare la PFS di una II linea comprendente bevacizumab vs una II linea senza bevacizumab in pazienti trattati in I linea con chemioterapia+bevacizumab.

Consuntivo 2010 - Programmazione 2011

Obiettivi secondari:

- 1) valutare il profilo di tollerabilità anche a lungo termine di bevacizumab, comparare response rate, durata della risposta, percentuali di chirurgia R0 di seconda istanza e OS tra i due regimi somministrati in I linea; valutare il profilo di tossicità e comparare OS e response rate tra i due regimi somministrati in II linea
- 2) valutare potenziali markers predittivi l'attività di bevacizumab o prognostici (polimorfismi del gene VEGF, KRAS, BRAF, NF-kB, PML).

Impatto assistenziale certo o potenziale

- Miglioramento della progression-free survival
- Incremento delle resezioni chirurgiche radicali (R0) delle metastasi
- Definizione del ruolo di bevacizumab in II linea dopo progressione con regime di I linea contenente bevacizumab, al fine di evitare un utilizzo improprio del farmaco biologico.

Risultati e prodotti 2010

Nello studio di I linea FOLFOXIRI e bevacizumab vs FOLFIRI e bevacizumab (studio TRIBE) sono stati reclutati ad oggi complessivamente 394 pazienti.

Nello studio di II linea comprendente bevacizumab vs una II linea senza bevacizumab in pazienti trattati in I linea con chemioterapia+bevacizumab (studio BEPYP) sono stati reclutati ad oggi complessivamente 109 pazienti.

Prosegue il reclutamento nei due studi fino al numero previsto di pazienti.

Pubblicazioni

Masi G.-Vasile E.-Loupakis F.-Cupini S.-Fornaro L.-Baldi G.- Salvatore L.-Cremolini C.-Stasi I.-Brunetti I.-Fabbri M.-Puglisi M.-Trenta P.-Granetto C.-Chiara S.-Fioretto L.-Allegrini G.-Crino' L.-Andreuccetti M.-Falcone A.
Randomized trial of two induction chemotherapy regimens in metastatic colorectal cancer: an updated analysis.
J. Natl. Cancer Inst. Epub Dec 1, 2010

Presentazioni a congressi

FOLFOXIRI plus Bevacizumab versus FOLFIRI plus Bevacizumab as first-line treatment of metastatic colorectal cancer: Preliminary safety results of the randomized TRIBE study by GONO.
General Poster Session ASCO 2010, J. Clin. Oncol. 28: 15s, abstr 3543, 2010

Bevacizumab in combination with FOLFOXIRI compared to bevacizumab plus FOLFIRI as first line chemotherapy of metastatic colorectal cancer: preliminary safety results of TRIBE study by the GONO
ESMO 2010, Annals Oncol. 21(suppl 8) abstr 608P, 2010

Attività previste e risultati attesi nel 2011

- Prosecuzione dello studio multicentrico di fase III confrontante panitumumab vs cetuximab in pazienti pretrattati con carcinoma coloretale metastatico KRAS wild-type.
- Prosecuzione studio fase II randomizzato in pazienti con carcinoma gastrico stadio IV, pretrattati con I linea chemio, per valutare l'attività di AUY922 (inibitore heat shock protein 90) vs docetaxel o irinotecan.
- Attivazione studio fase Ib con everolimus in associazione a chemio-radioterapia preoperatoria nel carcinoma rettale localmente avanzato.

Utilizzo di farmaci biologici nel trattamento integrato delle neoplasie squamose del distretto cervico-cefalico

Linea di ricerca: 3 - Ottimizzazione e personalizzazione delle strategie terapeutiche

Programma: c – Innovazioni terapeutiche: sviluppo dalle fasi precoci, incluse le correlazioni biologiche, agli studi di efficacia, inclusa la verifica di applicabilità nella pratica clinica.

Responsabile scientifico: Stefania Vecchio

Anno di inizio: 2009

Durata: 36 mesi

Parole chiave: farmaci biologici; chemio-radioterapia; tumore testa collo

Altre strutture IST partecipanti: s.c. Oncologia radioterapica (R. Corvò, A. Bacigalupo, M. Marcenaro, S. Vagge); s.c. Fisica sanitaria (S. Agostinelli)

Altri Enti coinvolti: SCU Radioterapia, ASO San Giovanni Battista, Torino (U. Ricardi); s.c. Oncologia Medica, Ospedale Santa Croce e Carle, Cuneo (M. Merlano)

Tipologia progetto: clinico-epidemiologica sperimentale

Area di interesse: terapeutica/quality of life

Consuntivo 2010 - Programmazione 2011

Soggetti cofinanziatori: GlaxoSmithKline

Background

A – Trattamento della malattia localmente avanzata e/o inoperabile

Il trattamento integrato di chemio-radioterapia nei tumori squamosi del distretto cervico-cefalico localmente avanzati e/o inoperabili è da anni lo standard, avendo, negli studi clinici e nelle meta analisi, fornito un beneficio assoluto dell'8% nella sopravvivenza a 5 aa rispetto alla sola radioterapia. Il Cetuximab, anticorpo monoclonale anti EGF, ha dimostrato attività antitumorale in monoterapia ed in associazione alla chemioterapia. Uno studio di fase III pubblicato da Bonner nel 2006 ha dimostrato vantaggio in sopravvivenza per l'associazione radioterapia-cetuximab vs la radioterapia. Gli studi di chemioterapia neoadiuvante hanno costantemente fallito nell'intento di documentare un vantaggio sul trattamento loco-regionale standard. Il vantaggio in sopravvivenza riportato dalla meta-analisi del 2000 era del 2% a 5 anni, vantaggio statisticamente non significativo. Il regime contenente taxotere, cisplatino e fluorouracile confrontato con il regime con cisplatino e 5 fluorouracile nella terapia di induzione in pazienti con malattia localmente avanzata non operabile, ha riportato un miglior profilo di tossicità ed un superiore numero di risposte obiettive associate ad una migliore sopravvivenza.

Per tale motivo è stato avviato il seguente studio: Chemioradioterapia di induzione seguita da radioterapia concomitante a Cetuximab nel trattamento integrato delle neoplasie localmente avanzate del distretto cervico-cefalico: studio multicentrico di fase II. La chemioterapia di induzione consiste in due cicli di taxotere, cisplatino e fluorouracile seguiti da radioterapia concomitante a cetuximab settimanale per tutta la durata della CT.

B- Terapia adiuvante nelle neoplasie squamose del distretto cervico-cefalico.

Gli studi randomizzati hanno dimostrato un vantaggio per la chemio-radioterapia nei pazienti operati per una neoplasia squamosa del distretto cervico-cefalico con fattori di rischio (invasione extracapsulare linfonodale e margini positivi).

Il Lapatinib è un inibitore dell'attività tiroxina chinasi di Erb B1, espresso in quasi tutti i tumori squamosi del distretto cervico-cefalico, ed Erb B2, espresso nel 20-40%. Negli studi di fase I ha dimostrato ottima tollerabilità quando associato ad un trattamento standard di chemioterapia a base di cisplatino e radioterapia. E' stato quindi proposto il seguente studio: Studio randomizzato in doppio cieco, placebo-controllo, multicentrico, di fase III di lapatinib adiuvante o placebo e chemio-radioterapia concomitante seguito da Lapatinib di mantenimento o placebo in monoterapia nei pazienti ad alto rischio con carcinoma squamoso del distretto cervico-cefalico resecato.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

A- Obiettivo primario: valutazione della tossicità del trattamento e del tasso di controllo locoregionale.

Obiettivi secondari: valutazione della sopravvivenza libera da malattia, della sopravvivenza globale, incidenza di metastasi a distanza, valutazione di parametri biologici (molecolari e immunologici) potenziali marcatori predittivi di risposta al trattamento, correlazione tra lo stato di espressione del recettore EGFR, bersaglio molecolare del Cetuximab, e risposta al trattamento.

Sono stati arruolati 31 pazienti, di cui 11 nel nostro Centro.

B- Obiettivo primario: valutazione e confronto della sopravvivenza libera da malattia nei due bracci di trattamento; obiettivi secondari: valutazione e confronto nei due bracci di sopravvivenza globale, recidiva locoregionale, incidenza di secondi tumori, ricadute a distanza, tossicità qualità della vita, biomarkers nel plasma, nel siero e nei tessuti neoplastici.

Sono stati arruolati nel mondo 354 pazienti di cui 14 in Italia e 4 nel nostro Centro.

Impatto assistenziale certo o potenziale

Riduzione della tossicità rispetto ai trattamenti standard di chemio-radioterapia attraverso l'utilizzo di farmaci biologici, miglioramento della sopravvivenza libera da malattia, delle recidive locoregionali e a distanza, prolungamento della sopravvivenza, identificazione di marcatori di risposta.

Risultati e prodotti 2010

A- Lo studio "Chemioradioterapia di induzione seguita da radioterapia concomitante a Cetuximab nel trattamento integrato delle neoplasie localmente avanzate del distretto cervico-cefalico: studio multicentrico di fase II" è stato chiuso nel mese di novembre. I dati relativi ai 34 pazienti inclusi, di cui 11 nel nostro centro, 4 arruolati nel 2009, non sono ancora stati pubblicati.

I nostri 11 pazienti hanno tutti completato il trattamento radioterapico, con tossicità gestibili. Due pazienti hanno sospeso il trattamento con cetuximab, uno per reazione allergica G4, l'altro per piastrinopenia G1. Non vi sono state morti tossiche.

B- Terapia adiuvante nelle neoplasie squamose del distretto cervico-cefalico.

Nello studio randomizzato in doppio cieco, placebo-controllo, multicentrico, di fase III di lapatinib adiuvante o placebo e chemio-radioterapia concomitante seguito da Lapatinib di mantenimento o placebo in monoterapia nei pazienti ad alto rischio con carcinoma squamoso del distretto cervico-cefalico resecato, sono stati randomizzati nel nostro Centro, 4 pazienti. Lo studio è ancora in corso.

Attività previste e risultati attesi nel 2011

A- I risultati dello studio CERCEFA saranno resi noti nel corso del 2011. E' in corso un protocollo di fase III "Chemioterapia di induzione seguita da radioterapia radicale + Cetuximab verso Chemio-radioterapia nel carcinoma squamoso della testa-collo localmente avanzato (SCCHN). Studio di fase III randomizzato" che confronta un braccio di chemio-radioterapia standard con un braccio di chemioterapia di induzione seguita da radioterapia e cetuximab, simile allo schema utilizzato nel precedente protocollo di fase II. Sono stati arruolati 35 pazienti di cui 12 nel nostro centro.

B- Lo studio randomizzato sul Lapatinib è aperto ed è possibile randomizzare i pazienti fino alla fine di marzo 2011.