

ESMO Symposium on Immuno-Oncology 2016

# Bakterien und Viren im Dienste der Immuntherapie



Aus dem wieder sehr interessanten und breitgefächerten Angebot an immunonkologischen Themen wählten wir den Bereich «Biologische Therapieoptionen mit Infektionserregern» aus. Vier kurz zusammengefasste Präsentationen zu diesem Thema finden Sie im Anschluss. Eine weitere interessante Neuigkeit ist, dass 2017 das «ESMO Symposium on Immuno-Oncology» zum ersten Mal als Kongress stattfinden wird.

## Onkolytische Immuntherapie beim Menschen – gelernte Lektionen mit Adenoviren

«Immuncheckpoint-Inhibitoren können nur die Handbremse lösen, die onkolytische Immuntherapie dagegen kann das Feuer entfachen ...» leitete Prof. Akseli Hemminki, Helsinki, seinen Vortrag ein.



Prof. Akseli Hemminki

Bei onkolytischen Viren handelt es sich um Viren, die so modifiziert wurden, dass sie sich nur noch in Tumorzellen replizieren können.

Dies führt zum onkolytischen Tod der Tumorzelle und Tausende von Virionen und Viren werden über das Blut disseminiert, so dass trotz lokaler Applikation auch systemische Wirkung erzielt werden kann. Dies ist nicht wirklich neu. Verschiedene Tests bzw. Beobachtungen wurden seit 1910 unternommen, beginnend mit Wildtyp-Viren und ab 1996 mit rekombinanten Viren.

Dem «Personalized Oncolytic Adenovirus Treatments in the Advanced Therapy Access Program» folgend, begann eine Studie in Helsinki 290 Patienten mit metastatischen soliden Tumoren und Progression nach Standardtherapie mit 10 verschiedenen onkolytischen Viren zu behandeln. Die Patienten tolerierten die Viren besser als Chemotherapie oder Checkpoint-Inhibitoren und es kam zu keinem Therapie-assoziierten Todesfall und nur zu Grad 1 und 2 Fieber, Schmerz und Fatigue. Obwohl dieses Studiendesign nicht zur Untersuchung der Wirksamkeit konzipiert war, konnte durch optimale Auswahl der Viren und Therapieschemata bei etwa der Hälfte der Patienten eine Krankheitskontrolle mit Langzeitüberleben (> 300 Tage, teilweise > 10 Jahre) erreicht werden.

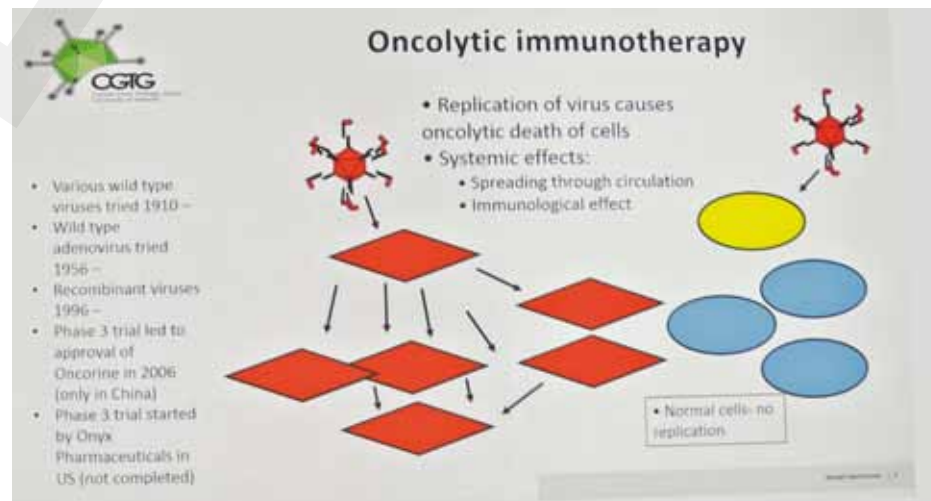
Da viele Wirkungen onkolytischer Viren Immunreaktionen erfordern, z.B. die Induktion zytotoxischer T-Zellen oder spezifische gegen Tumor-Epitope gerichtete Immunität, können diese nur in Patienten und nicht in vitro in Zelllinien beobachtet werden. Obwohl die Erstlinientherapie die grösste Wirksamkeit besitzt, sind onkolytische Viren auch in einer Zweitlinientherapie wirksam, besonders wenn in der Erstlinie Chemotherapie und/oder Radiotherapie eingesetzt wurden. Es zeigte sich jedoch auch,

dass onkolytische Replikation allein nicht ausreicht, um fortgeschrittene Tumorerkrankungen zu heilen.

Die zweite Generation onkolytischer Viren wurde mit GM-CSF (Granulozyten-Monozyten-Kolonie-stimulierender Faktor) assoziiert, wodurch die Antigen-Präsentation verstärkt und NK- und zytotoxische T-Zellen induziert werden können. Die personalisierte Krebsvakzine für jeden Patienten, spezifisch für Epitope auf der Tumorzelle, führt zum Tod der Tumorzelle in drei Schritten: a) onkolytische Effekte der Virus-Replikation, b) NK-vermittelter direkter Zelltod und c) DC-vermittelte Tumor-spezifische Immunität. Diese Vakzine erwies sich als gut wirksam und führte im Fall einer Frau mit metastatischem Fibrosarkom der rechten Lunge, die bereits palliativ behandelt wurde, zu einer Tumorregression mit Überleben nach 30 Monaten bei gutem Allgemeinzustand.

Die systemische Wirksamkeit, eine Notwendigkeit bei metastatischen Krebserkrankungen, der intratumoral verabreichten Tumorkvakzine, zeigte sich durch Regression nicht nur der injizierten Tumoren, sondern auch nicht injizierter Metastasen. Ein gleichzeitig vorübergehend nachgewiesener Rückgang der Lymphozytenzahl im Blut könnte durch Umverteilung der Lymphozyten vom Blut in andere Gewebe erklärt werden. Zusätzlich kam es teilweise innerhalb von 10 Minuten zu einer Vielzahl starker immunologischer Reaktionen d.h. «Entfachen des Feuers».

Der starke Anstieg aktivierter T-Zellen kann durch Kombination von onkolytischer Immuntherapie mit T-Zell-Therapie mit den drei Formen TIL (tumor infiltrating lymphocytes), TCR (T-cell receptor modified) und CAR (chimeric antigen receptor modified) therapeutisch genutzt werden. In vitro Versuche zeigten jedoch, dass nur onkolytische Adenoviren systemisch T-Zellen aktivieren und adoptive T-Zell-Therapie ermöglichen. In Hamstermodellen führten onkolytische Adenoviren, assoziiert an TNF $\alpha$  und IL2, mittels adoptiver Zelltherapie (TIL) zu einer 100%igen Tumorheilung. Zusätz-



lich zeigte sich, dass für TNF $\alpha$ +IL2 verstärkte Viren ein Gedächtnis für denselben Tumortyp entwickeln, nicht für andere Tumortypen. T-Zell-Therapie hat bei Melanom-Patienten mit 50% eine sehr hohe Therapie-Antwortrate, die jedoch aufgrund der vorbereitenden Chemotherapie und nachbereitenden IL2-Therapie mit hoher Toxizität einhergeht. Die IL2-assoziierte Toxizität liess sich im Mausmodell durch mit IL2-beladene Viren reduzieren.

## Onkolytische Immuntherapie mit Herpes simplex und Coxsackie Viren: Neue Therapiemöglichkeiten für Krebserkrankungen in fortgeschrittenem Stadium



**Prof. Robert Andtbacka**

Es gibt eine Vielzahl von Studien mit onkolytischen Viren, so **Prof. Robert Andtbacka**, Salt Lake City, aber nur wenige davon sind Phase-III-Studien und T-VEC ist das zur Zeit einzige zugelassene onkolytische Virus.

Werden onkolytische Viren in den Tumor injiziert, so werden diese vor allem von Tumorzellen und nur selten von normalen Zellen aufgenommen, replizieren sich und verursachen Zell-Lyse. Auf diese Weise gelangen die Tumorzell-Antigene ins Blut und können DC (dendritic cell) und die spezifische Immunabwehr aktivieren.

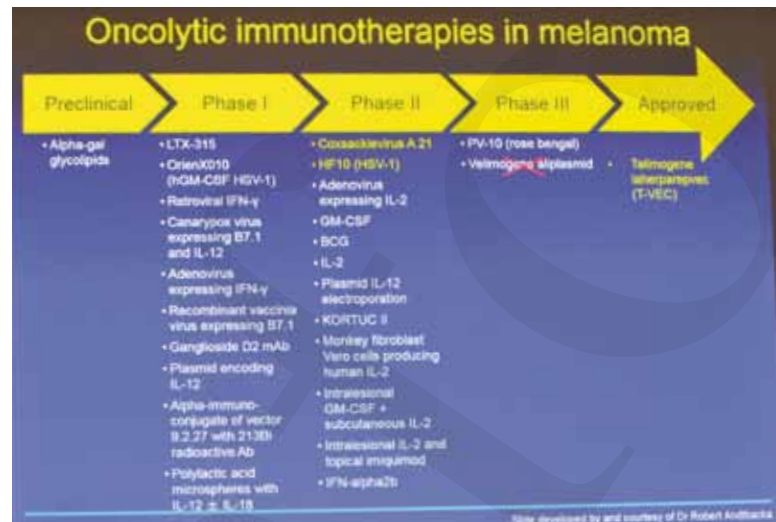
### Onkolytische Viren:

Bei T-VEC handelt es sich um ein Herpes simplex Typ 1 Virus (HSV-1) mit einer Vielzahl an genetischen Modifikationen (u.a. GM-CSF-Gen, das vermutlich die T-Zell-Immunität anregt und DC aktiviert), das entworfen wurde, um antitumorale Wirksamkeit zu erzielen. Wie T-VEC ist HF10 ein onkolytisches HSV-1, das jedoch genetisch nicht modifiziert wurde, dem aber das Gen UL56 für die neuronale Toxizität fehlt. So weist HF10 die starke Replikationsfähigkeit nicht aber die neuronale Pathogenität des HSV-1 auf. Das Coxsackie-Virus A21 (CVA21) nutzt das Oberflächenprotein ICAM-1, das besonders stark von Melanom-, NSCLC- und Blasenkarzinomzellen exprimiert wird, um in die Zelle einzudringen.

### Wirksamkeit und Sicherheit in der Erstlinien-Monotherapie:

Patienten mit nicht-resezierbarem Melanom zeigten in der Phase II CALM-Studie nach intratumoralen (i.t.) Injektion von CVA21 Ansprechraten der injizierten Hautläsionen (CR oder PR) von ca. 36% und eine Krankheitskontrolle (CR, PR oder SD) von ca. 75%. Leber- und Lungen-Metastasen wiesen keine CR auf, jedoch zeigten 37% der Patienten ein teilweises Ansprechen der Lebermetastasen. So konnte mit einer subkutanen Injektion eine systemische Antwort erzielt werden.

Die Zulassung von T-VEC beruht auf der OPTiM-Studie, die die Wirksamkeit von T-VEC (i.t.) mit GM-CSF (s.c.) bei nicht resezierbarem Melanom verglich. Primärer Endpunkt war DRR (dauerhafte Ansprechrate), sekundäre Endpunkte OS, ORR und TTF. Der Therapieunterschied im primären Endpunkt betrug signifikant 14.1% ( $p < 0.0001$ ) zugunsten von T-VEC. Im sekundären Endpunkt (ORR) betrug der Therapieunterschied 20.8% zugunsten der T-VEC-Therapie und 41% der T-VEC-Responders zeigten CR. Im Oktober 2015 erhielt Amgen die Zulassung durch die FDA für die Therapie des metastasierten Melanoms. Die EMA dagegen erteilte die Zulassung nur für die Subgruppen mit Stage IIIB/C, IV M1a d.h. Patienten ohne Leber-, Lungen- oder viszerale Metasta-



sen. Denn nur diese Patienten zeigten einen OS-Vorteil (HR von 0.57 [95% CI;  $p < 0.001$ ]), nicht dagegen Patienten mit Metastasen (HR 1.07 [CI 95%;  $p = 0.71$ ]).

Es ist wichtig, Patienten solange mit T-VEC zu therapieren, wie es therapeutisch vertretbar ist, denn zu Beginn der Therapie kommt es in den meisten Fällen (54% der OR und 48% der dauerhaften T-VEC-Responders) zuerst zu einer Krankheitsprogression bevor die Regression einsetzt. 65% der T-VEC-Responders waren auch nach 12 Monaten noch in einer Therapieantwort. Nach 3 Jahren betrug die Wahrscheinlichkeit, kein Rezidiv zu erleiden, 72%. Bei 20% bis 50% der Patienten traten Nebenwirkungen aller Grade auf, wobei Grad 3/4 Nebenwirkungen selten vorkamen. Die Therapieantwort war nicht nur in den injizierten, sondern auch in nicht injizierten Läsionen nachweisbar. So zeigten zwei Drittel der lokal therapierten Läsionen eine Therapieantwort mit v.a. CR, jedoch auch 30% der nicht therapierten benachbarten Läsionen sprachen auf die Therapie an und auch hier mehrheitlich als CR. Lungen-, Leber- oder viszerale Metastasen dagegen zeigten nur in 15% der Fälle eine Therapieantwort. In diesen Fällen ist möglicherweise eine Kombinationstherapie der Monotherapie vorzuziehen.

### Wirksamkeit und Sicherheit in der Erstlinien-Kombinationstherapie: onkolytische Immuntherapie plus Checkpoint-Inhibitoren:

Die Kombination der Checkpoint-Inhibitoren Nivolumab und Ipilimumab führt zu einer ca. 50%igen Ansprechrate metastatischer Melanome, geht jedoch auch mit hoher Toxizität einher ( $> 55\%$  Grad 3/4). Die Kombination mit onkolytischen Viren könnte möglicherweise die gleiche Wirksamkeit bei niedrigerer Toxizität erzielen. Dieser Frage gingen Studien mit verschiedenen Checkpoint-Inhibitoren nach:

T-VEC + Ipilimumab zeigte keine neuen Sicherheitshinweise oder Dosis-limitierende Toxizität bei einer Rate von 50% Responders. Als prognostischer Marker für das Ansprechen auf die Kombinationstherapie ist der Anstieg aktivierter CD8 $^{+}$ -T-Zellen im peripheren Blut identifiziert worden.

T-VEC + Pembrolizumab zeigte ebenfalls gute Verträglichkeit und eine ORR von 56% und DCR 69%, jedoch bislang in einer kleinen Patientenpopulation.

Eine randomisierte, doppelblinde, Placebo-kontrollierte Phase-III-Studie mit Beginn im März 2016 (MASTERKEY-265) vergleicht Wirksamkeit und Sicherheit von T-VEC + Pembrolizumab vs. Pembrolizumab + Placebo.

#### Kombinierte Anwendung onkolytischer Immuntherapie in späteren Therapielinien:

HF10 + Ipilimumab in nicht-resezierbarem Melanom Stage IIIB/IV: Auch hier war die Rate der unerwünschten Nebenwirkungen in der Immuntherapie/ Vakzine-Kombination niedriger bei vergleichbarer Ansprechrate als bei einer kombinierten Immuntherapie + Immuntherapie-Behandlung.

Welche Kombinationen für welche Tumortypen am wirksamsten sind, muss noch untersucht werden, es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Kombination aus onkolytischer Immuntherapie + Checkpoint-Inhibitor niedrigere Toxizität aufweist.

#### Anwendung onkolytischer Immuntherapie bei Immuncheckpoint-Inhibitor-Therapie-refraktären Patienten:

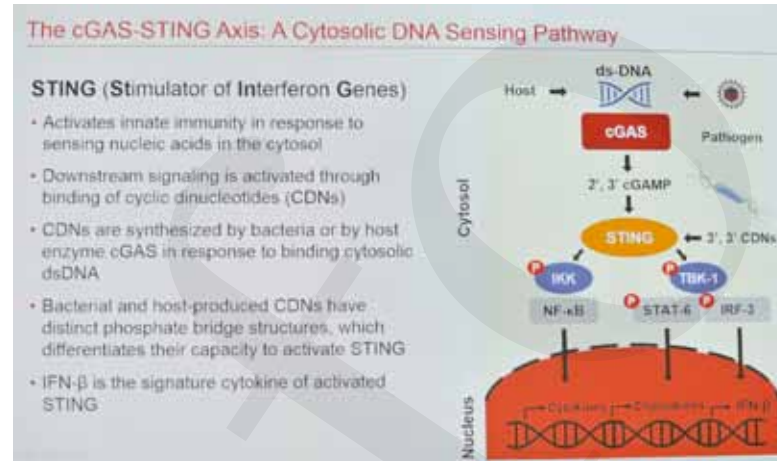
Die Phase-II CALM-Studie untersuchte die Frage, welche Immuncheckpoint-Inhibitor-refraktären Patienten von einer onkolytischen Immuntherapie profitieren könnten. Biopsien dieser Patienten zeigten das Fehlen von TILs im Tumorgewebe. Jedoch war nach bereits dreimaliger Injektion mit Coxsackie Viren ein starker Anstieg an TILs (v.a. CD8+T-Lymphozyten) in den Tumoren nachweisbar, ebenso wie eine Hochregulierung der PD-L1 Expression. Weitere Untersuchungen zeigten, dass sich Responder durch eine erhöhte Anzahl an CD8+ T-Lymphozyten und verstärkte PD-L1 Expression auszeichneten, ebenso wie durch eine verstärkte Expression Immuncheckpoint inhibitorischer Gene (CTLA-4, IDO und LAG3), sowie durch eine verstärkte Expression Immuncheckpoint stimulierender Gene (v.a. CD122). Bei CD122 handelt es sich um die  $\beta$ -Komponente des IL-2-Rezeptorkomplexes, der die Anti-Tumor Aktivität durch CTLA-4 Blockade verstärkt. Wiederholte Biopsien zur Bestimmung der Konzentration verschiedener Marker könnten eine bessere Prognosestellung ermöglichen.

Die Anwendung onkolytischer Viren bei anderen Tumortypen und eine intravenöse Anwendung von CVA21 sind interessante Therapieansätze, die weiter untersucht werden sollten.

#### Aktivierung des STING-Signalwegs induziert Tumor-Immunität

STING (Stimulator of Interferon Genes) induziert als Antwort auf Nucleinsäuren im Zytoplasma (cyclic dinucleotides, CDNs) IFN- $\beta$  und ist Teil der angeborenen Immunantwort, erläuterte **Dr. Thomas Dubensky**, Berkeley. Die Anti-Tumor-Wirkung von CDN ist STING-abhängig.

STING wird von vielen Zellen exprimiert und aktiviert verschiedene Zelltypen innerhalb der Tumor-Micro-Environments (TME). In verschiedenen Mausmodellen konnte gezeigt werden, dass die intratumorale Injektion von CDNs (z.B. ADU-S100, ein neues CDN) lokal neben dem Einströmen von Neutrophilen (TILs) in das TME, IFN- $\beta$  und IFN- $\alpha$ -Synthese durch Monozyten, CD8 $\alpha$  DC Reifung und mittels TNF- $\alpha$  primäre Tumorregression induziert.



Zusätzlich induziert die STING Aktivierung Priming von CD8+ T-Zellen und systemische Immunität mit abscopalem Effekt.

#### Intravesikale Immuntherapie mit Salmonella Ty21a-Vakzine



**Dr. Denise Nardelli Haefliger**

**Dr. Denise Nardelli Haefliger**, Lausanne, erläuterte, dass intravesikale Instillation von BCG (Tuberkulose-Vakzine) die erste FDA zugelassene Immuntherapie (1990) und die Goldstandard-Behandlung bei NMIBC (nicht Muskel-invasiver Blasenkrebs) zur Prävention von Rezidiven und Progression darstellt. Die Kombination von Krebsvakzinen mit intravesikaler BCG-Therapie erwies sich als sicher und erhöhte die Konzentrationen an CD4+ und CD8+ T-Zellen im Urin der behandelten Patienten. Lokale Immunstimulierung regt das T-Zell-«Homing» an der Tumorstelle an und wirkt der immunsuppressiven Wirkung des TME entgegen. Die Hälfte der mit Vakzine behandelten Patienten zeigte Vakzine-spezifische T-Zellen im PBMC mit oder ohne begleitende BCG-Therapie, lokal dagegen konnten Vakzine-spezifische T-Zellen nur bei gleichzeitiger Gabe von BCG nachgewiesen werden. Jedoch kommt es bei über 30% der mit BCG therapierten Patienten zu Therapieversagen, zu Entzündungen, unerwünschten Nebenwirkungen und langem Überleben der Bakterien. Es stellt sich die Frage, ob BCG durch Ty21a ersetzt werden könnte. Studien mit Mäusen zeigten, dass die Wirksamkeiten vergleichbar sind, das Sicherheitsprofil von Ty21a jedoch dem von BCG überlegen ist.

Bei Ty21a handelt es sich um einen attenuierten Salmonella typhi-Stamm, der intravesikal verabreicht die Konzentration Vakzine-spezifischer CD8-T-Zellen in der Blase stark steigert und in Mausversuchen die Tumorregression und das Überleben erhöht. Bei intravesikaler Immuntherapie bei Blasenkrebs könnte Ty21a sicherer und wirksamer sein als BCG.

▼ **Dr. Heidrun Ding**

Quelle: ESMO Symposium on Immuno-Oncology, Lausanne 4.–6.11.2016