



CELL THERAPY OPEN SOURCE

CELL THERAPY OPEN SOURCE

LE TERAPIE CAR-T, DAL LABORATORIO AL PAZIENTE

una edizione



Editore Rarelab Srl

Progetto grafico Thomas Corona

Immagine di copertina Giusy De Vito

Coordinamento editoriale Francesca Ceradini

Il presente documento, pubblicato nel mese di Novembre 2020, ha scopo informativo e non promozionale. I contenuti sono di proprietà di Gilead Sciences S.r.l. e non possono essere riprodotti in alcun modo se non previa autorizzazione scritta di Gilead Sciences S.r.l. e citazione della fonte.

©Gilead Sciences

un progetto di



con il patrocinio di



Prof. Patrizio Armeni

Associate Professor of Practice, Government, Health and Not for Profit presso SDA Bocconi School of Management

Dott.ssa Francesca Ceradini

Direttore Scientifico Osservatorio Terapie Avanzate

Prof. Paolo Corradini

Presidente della Società Italiana di Ematologia (SIE); Direttore della Divisione di Ematologia della Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori di Milano; Professore Ordinario dell'Università degli Studi di Milano

Prof.ssa Franca Fagioli

Direttrice della Struttura Complessa Oncoematologia Pediatrica e Centro Trapianti Università di Torino, Presidio Ospedaliero Infantile Regina Margherita, A.O.U. "Città della Salute e della Scienza" di Torino

Avv. Elisabetta Iannelli

Segretario Nazionale Federazione Italiana delle Associazioni di Volontariato in Oncologia (F.A.V.O.)

Prof. Claudio Jommi

Professor of Practice, Government, Health and Not for Profit Division, SDA Bocconi School of Management, Milano

Prof. Franco Locatelli

Direttore del Dipartimento di Onco-Ematologia e Terapia Cellulare e Genica dell'IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma.

Prof. Alberto Mantovani

Direttore Scientifico dell'IRCCS Humanitas di Milano

Dott.ssa Sabrina Nardi

Responsabile Pazienti AIL (Associazione Italiana contro Leucemie, Linfomi e Mieloma)

Prof.ssa Maria Luisa Nolli

Co-fondatrice e Amministratore Delegato di NCNbio

Dott. Enrico Orzes

Redazione Osservatorio Terapie Avanzate

Prof.ssa Martina Pennisi

Divisione di Ematologia della Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori di Milano

Dott. Davide Petruzzelli

Coordinatore Gruppo di Lavoro Federazione Italiana delle Associazioni di Volontariato in Oncologia (F.A.V.O.) - Neoplasie Ematologiche

Prof. Giulio Pompilio

Direttore Scientifico del Centro Cardiologico Monzino IRCCS e Professore associato di cardiocirurgia dell'Università degli Studi di Milano

Dott. Riccardo Saccardi

Direttore SODc Terapie Cellulari e Medicina Trasfusionale, Azienda Ospedaliera Universitaria Careggi

Dott.ssa Cristina Tognaccini

Redazione Osservatorio Terapie Avanzate

Dott.ssa Roberta Villa

Giornalista scientifica

Prof. Pier Luigi Zinzani

Professore Ordinario Istituto di Ematologia "L. e A. Seràgnoli", Università di Bologna

Prefazione	pag. 11
a cura di Valentino Confalone	
Introduzione	pag. 15
Roberta Villa	
Capitolo 1	
Il futuro della medicina: le terapie avanzate	pag. 19
Cristina Tognaccini, Enrico Orzes e Francesca Ceradini	
Capitolo 2	
Le CAR-T: l'ultima frontiera dell'immunoterapia in ambito oncologico	pag. 27
Alberto Mantovani	
Capitolo 3	
La sicurezza delle terapie a base di cellule CAR-T	pag. 35
Pier Luigi Zinzani	
Capitolo 4	
La leucemia linfoblastica acuta in età pediatrica	pag. 39
Franca Fagioli	
Capitolo 5	
I linfomi	pag. 45
Paolo Corradini	
Capitolo 6	
La regolamentazione delle CAR-T	pag. 51
Giulio Pompilio	
Capitolo 7	
Il processo di produzione delle CAR-T	pag. 57
Maria Luisa Nolli	
Capitolo 8	
Valore, costo e sostenibilità delle CAR-T	pag. 63
Claudio Jommi e Patrizio Armeni	
Capitolo 9	
Accesso ai pazienti in Italia	pag. 69
Riccardo Saccardi	
Capitolo 10	
Il ruolo delle associazioni al fianco dei pazienti	pag. 75
Elisabetta Iannelli, Davide Petruzzelli e Sabrina Nardi	
Capitolo 11	
2020-2030: Il futuro delle CAR-T tra sfide e opportunità	pag. 81
Franco Locatelli e Martina Pennisi	
Appendice 1	
Approfondimento tecnico: i dati degli studi clinici sulle CAR-T	pag. 87
Appendice 2	
Principali acronimi	pag. 92

CREATING POSSIBILE

L'IMPEGNO DI GILEAD NEL CAMPO DELLE TERAPIE CELLULARI IN ONCOEMATOLOGIA

a cura di **Valentino Confalone**

Vice President, General Manager, Gilead Sciences

Il difficile momento storico che viviamo ha messo in luce più che mai il ruolo strategico che l'industria del farmaco riveste nell'ambito del sistema Salute, al fianco di istituzioni, clinici, operatori sanitari, e pazienti. Le risorse messe in campo dal comparto consentono di affrontare momenti di grande incertezza, come quello attuale, nella consapevolezza di poter contare su professionalità e determinazione nel cercare risposte ai bisogni di salute.

Creating Possible è ciò in cui crediamo: sfidiamo l'impossibile per renderlo possibile.

Puntare sulla ricerca scientifica ci ha consentito di sviluppare terapie innovative o addirittura trasformative, raggiungendo traguardi ritenuti impensabili in medicina. Di fronte a patologie per le quali sembrava appunto *impossibile* trovare efficaci opzioni di trattamento o di cura, Gilead ha scoperto nuove e rivoluzionarie possibilità terapeutiche: una nuova via per trattare l'HIV, una cura per l'epatite C, un trattamento per l'infezione da Coronavirus, terapie personalizzate come la terapia genica CAR-T applicata in oncematologia.

Ed è proprio grazie alla nostra CAR-T, rimborsata in Italia dallo scorso anno, che anche i pazienti italiani dispongono di una cura contro forme aggressive di neoplasie ematologiche, come il linfoma diffuso a grandi



cellule B e il linfoma primitivo del mediastino a grandi cellule B, entrambi recidivanti o refrattari dopo due o più linee di terapia sistemica: una speranza concreta e una prospettiva di cura per i pazienti; una terapia che ha segnato l'inizio di un percorso rivoluzionario in oncologia e che presto speriamo diventi un'importante opzione di trattamento anche per altri tipi di tumore, compresi quelli solidi.

Come tutte le rivoluzioni, anche quella generata dalle terapie cellulari impone un cambio di paradigma e attente valutazioni – cliniche, gestionali, economiche – da parte di tutti gli attori coinvolti, in un'ottica di partnership, programmazione, ottimizzazione delle risorse. E in questo scenario Gilead offre il suo contributo concreto e di valore.

Cell Therapy Open Source è il progetto che insieme all' Osservatorio Terapie Avanzate abbiamo concepito per tracciare il quadro attuale e lo scenario delle terapie cellulari in Italia, le prospettive che esse offrono, gli ostacoli e le criticità che i sistemi incontrano nel percorso verso disponibilità ed accesso, le azioni da adottare per concretizzare le opzioni terapeutiche più all'avanguardia e per preparare gli scenari futuri.

Siamo orgogliosi che rappresentanti di rilievo della comunità scientifica, dei pazienti, del mondo accademico e delle Istituzioni, abbiano deciso di inaugurare con noi un percorso comune di riflessione e di confronto aperto a revisione, che possa guidarci in modo continuativo nella gestione oculata e tempestiva di uno scenario in trasformazione, in cui si possa tener conto dei bisogni di salute e, al tempo stesso, delle ricadute in chiave di sostenibilità sociale e sanitaria.

Oggi presentiamo il volume 1 *Le Terapie CAR-T, dal laboratorio al paziente*.

A tutti coloro che hanno contribuito alla stesura dell'ebook e creduto in questo progetto va il nostro più sentito ringraziamento.

Roberta Villa

Erano gli anni Ottanta del secolo scorso quando si cominciò a parlare della possibilità di “armare” i linfociti per aumentare la loro capacità di combattere contro i tumori. Sarebbero dovuti passare però quasi trent’anni prima che, nel 2012, una bambina di 7 anni, Emily Whitehead, grazie a un’infusione di cellule CAR-T ricevute presso il Children’s Hospital di Philadelphia ottenesse la totale remissione della leucemia di cui soffriva e che era stata fino ad allora resistente a tutte le terapie.

A giugno di quello stesso anno 2012, Jennifer Doudna ed Emmanuelle Charpentier pubblicavano su Science il lavoro che avrebbe guadagnato loro il premio Nobel annunciato l’8 ottobre 2020, poco prima dell’uscita di questo libro. Descriveva una scoperta che, tra le altre cose, apre nuove prospettive proprio nel mondo delle terapie avanzate: un metodo semplice e preciso per individuare specifiche sequenze nel DNA e modificarle a piacere. Grazie a questa tecnica, chiamata CRISPR-Cas9, anche la produzione di cellule CAR-T potrebbe risultare più facile e mirata. La stessa procedura potrebbe essere utilizzata anche per individuare quali farmaci siano in grado di ridurre i rischi e migliorare l’efficacia della terapia cellulare, e per chissà quali altri avanzamenti in questo e altri campi.

Come mi disse Ken Oye, direttore del Programma sulle tecnologie emergenti al Massachusetts Institute of Technology (MIT) di Boston, in un’intervista di qualche anno fa: “Nella maggior parte dei casi, le proiezioni iniziali sul futuro delle nuove tecnologie hanno completamente fallito: le loro conseguenze più rilevanti inizialmente non erano state nemmeno immaginate, mentre altre che erano state date per scontate non si sono mai realizzate”.

La comunicazione di queste innovazioni deve quindi essere sempre onesta e prudente, mostrandone al contempo tutte le potenzialità. Al momento dell’annuncio del Nobel per CRISPR si è detto che “solo l’immaginazione può porre limiti alle sue applicazioni”¹. La storia delle terapie avanzate, tuttavia, insegna che nel passare dal laboratorio alla pratica si possono incontrare altri tipi di limiti, che vanno ben oltre i confini della fantasia, e che non possono essere sottovalutati: questioni di sicurezza, perché in una strada tanto innovativa occorre escludere il rischio di gravi effetti indesiderati; difficoltà tecniche, nel caso delle CAR-T, di superare

¹ In effetti se ne stanno ipotizzando in tutti i campi, dalla ricerca biomedica - con lo studio di nuovi test e nuove cure - alla messa a punto di piante geneticamente modificate resistenti alle muffe, ai parassiti, ai cambiamenti climatici.

l'ambito delle malattie ematologiche e riuscire a portare le cellule curative al cuore dei tumori solidi; problemi pratici, come la necessità di portare su larga scala procedure sofisticate, e aspetti economici, nel tentativo di renderne sostenibili i costi. Infine, seppure in ambiti diversi da quello affrontato in questo volume, lo scontro con riserve etiche di parte della società, come accaduto per l'uso di cellule staminali di origine embrionale o la manipolazione genetica degli embrioni stessi, anche al fine di curare gravi patologie ereditarie.

Questa corsa a ostacoli richiede inevitabilmente tempo. A cavallo del nuovo millennio, negli anni epici della corsa a leggere per la prima volta tutta la sequenza di DNA contenuta nei 46 cromosomi umani, un altro premio Nobel, Renato Dulbecco, aveva profetizzato che grazie a quei risultati in cinque anni sarebbero stati chiusi tutti i laboratori di ricerca sul cancro. Purtroppo questa previsione non si è realizzata, certo non nei tempi e nella misura annunciata dal grande scienziato, che del Progetto Genoma Umano era uno dei promotori. Ma la conoscenza ottenuta in quello sforzo collaborativo globale ha consentito tanti piccoli o grandi passi avanti, nella cura di diversi tipi di tumore.

La ricerca procede lentamente, e non sempre va nella direzione che anche i massimi esperti avrebbero immaginato. Enfatizzare e accelerare la comunicazione dei suoi risultati, da parte degli scienziati, dei loro uffici stampa, dei giornalisti, dei medici o addirittura dei politici, è sempre rischioso. Gli annunci trionfali, quando si scontrano con la realtà di cure ancora spesso pesanti e non sempre risolutive, rischiano di creare nel pubblico assuefazione e disincanto, fino ad alimentare un pericoloso scetticismo nei confronti della scienza, oltre che dell'informazione. Viceversa, anche il disfattismo o il complottismo contro la ricerca cosiddetta "ufficiale" tolgono fiato e supporto alla ricerca scientifica, allontanando i malati da possibili cure efficaci.

La miscela più esplosiva si ha quando queste posizioni apparentemente opposte si uniscono, e le legittime speranze degli ammalati incontrano chi ne vuole approfittare, promettendo scorciatoie rispetto alle soluzioni della medicina basata sul metodo scientifico. È capitato con il trattamento Di Bella, si è ripetuto con il caso Stamina, quando milioni di persone sono state tratte in inganno dall'idea che nel laboratorio improvvisato in un sottoscala di un ufficio, un paio di ignoti ricercatori potessero preparare in pochi mesi infusi cellulari capaci di dare risposta a situazioni diversissime tra loro: malati di Parkinson, persone rimaste paraplegiche dopo un incidente stradale, pazienti afflitti da psoriasi o bambini portatori di gravissime malattie genetiche neurodegenerative. Venne travolta la politica, la magistratura, la stampa, con il sospetto che dietro a tutto ci fosse la volontà di scardinare la legislazione europea sulle terapie avanzate. Una legislazione severa, che impone la produzione di cellule in condizioni di massima sicurezza, a tutela dei pazienti.

La scienza è un'altra cosa, come spiegheranno nelle prossime pagine i migliori esperti italiani. La messa a punto di una strategia innovativa e in un certo senso rivoluzionaria come quella delle cellule CAR-T richiede tempo, competenze multidisciplinari, strutture adeguate, protocolli ben definiti. Solo con procedure rigorose si possono ottenere cellule sempre più sicure ed efficaci contro il cancro. Anzi, contro la malattia di quel sottogruppo di pazienti che può trarre il massimo beneficio da un trattamento, per poi, a mano a mano che si raccolgono nuove prove, estenderne l'uso a diverse forme di leucemie e linfomi refrattari ad altri trattamenti. E pensare in futuro di renderle in grado di affrontare anche i tumori solidi, soprattutto quelli contro cui ancora abbiamo pochi strumenti.

Il trattamento con le cellule CAR-T non è una passeggiata, né serve a curare ogni forma di cancro. Occorre diffidare da soluzioni offerte da centri sconosciuti, magari all'estero. Meglio credere ai medici che, seguendo una strada consolidata, cercano di allargare lo spettro delle loro indicazioni. Ci sono buone speranze che, come accaduto in questi anni, le possibilità di applicazione di questa tecnica vadano aumentando. È essenziale sostenere la ricerca perché questo possa accadere, e nel più breve tempo possibile.

Bibliografia

- Stadtmayer E.A, et al. CRISPR-engineered T cells in patients with refractory cancer. *Science*, 2020. 367(6481): eaba 7365
- Hamilton J.R., Doudna J.A. Knocking out barriers to engineered cell activity. *Science*, 2020. 367(6481): 976-977
- Dufva O. Integrated drug profiling and CRISPR screening identify essential pathways for CAR T-cell cytotoxicity. *Blood*, 2020. 135(9): 597-609
- Villa R., Michienzi A. *Acqua sporca*. Zadig, 2014

Capitolo 1



IL FUTURO DELLA MEDICINA

LE TERAPIE AVANZATE

Cristina Tognaccini, Enrico Orzes e Francesca Ceradini

Le terapie avanzate: una rivoluzione che inizia negli anni '70

Era il febbraio del 1975 quando centoquaranta tra biologi, medici e avvocati si riunirono per alcuni giorni in un centro conferenze presso Asilomar State Beach, negli Stati Uniti, per stilare le Linee Guida spontanee - oggi ancora in parte seguite - che garantissero la sicurezza della tecnologia del DNA ricombinante. Era l'inizio di una rivoluzione, avviata qualche decennio prima, nel momento in cui si iniziò a capire che i geni erano costituiti da DNA e che questo codificava le informazioni essenziali per i processi di replicazione e di sintesi proteica. Concetti che furono incorporati nel modello di DNA di James Watson, Francis Crick e Rosalind Franklin, aprendo le porte alla possibilità di manipolazione e modifica del genoma. Era qualcosa di assolutamente nuovo e, fino ad allora, inimmaginabile: per la prima volta i ricercatori potevano creare un DNA ibrido, combinando artificialmente materiale genetico di origine differente, e inserirlo in un organismo ospite, che in tal modo diventava quello che oggi chiamiamo un "Organismo Geneticamente Modificato" (OGM). Data la portata di tale scoperta, la stessa comunità scientifica, che capì subito l'impatto sia positivo sia negativo che la tecnica avrebbe potuto avere sulle vite umane, decise di autoregolamentarsi.

In realtà la storia delle biotecnologie - intese come l'uso dei sistemi biologici, degli organismi viventi o di derivati di questi, per produrre o modificare prodotti o processi utili al soddisfacimento dei bisogni della società - ha origini già nell'antichità, se si considera l'utilizzo di batteri fermentati per produrre yogurt e formaggio o di lieviti per la produzione della birra. In ambito medico, però, un primo punto di svolta si ebbe nel 1975 con la messa a punto dei primi anticorpi monoclonali da parte di Georges Köhler, Niels Kaj Jerne e César Milstein, che nel 1984, per tale scoperta, furono insigniti del Premio Nobel per la Medicina. A seguire, qualche anno dopo, la tecnologia del DNA ricombinante venne perfezionata ulteriormente portando alla produzione di molecole di interesse tramite microrganismi (come batteri o funghi) modificati. Nascono così i farmaci biotecnologici, anche chiamati farmaci biologici. Un esempio che tutti conoscono è quello dell'insulina umana, prodotta per la prima volta nel 1982 inserendo il gene umano nel batterio *Escherichia coli* e ottenendo così grandi quantità di insulina perfettamente identica a quella prodotta dagli esseri umani. Fino a quel momento le persone diabetiche avevano usato insulina di origine animale, che non era tollerata da tutti.

Successivamente, grazie alle metodiche di biologia molecolare e al sequenziamento genico, furono identificate

numerose alterazioni geniche alla base di diverse patologie. Questo fu il punto di partenza per concretizzare l'idea, già ipotizzata nel 1972 da Theodore Friedmann e Richard Roblin su *Science*, di curare le malattie genetiche umane andando ad agire direttamente sui geni. Nasce così il concetto della terapia genica: sfruttare la tecnica del DNA ricombinante per costruire pezzi di DNA contenenti sequenze geniche desiderate che, una volta inseriti nelle cellule, potessero compensare il malfunzionamento dei geni "malati". La prima terapia genica per un essere umano fu messa a punto nel 1990 dal medico statunitense William French Anderson che la realizzò per una bambina affetta da SCID (Severe Combined Immunodeficiency), un'immunodeficienza combinata grave. Nonostante gli alti e bassi che seguirono, la strada per questa nuova e ingegnosa strategia terapeutica era ormai aperta. Ma gli scienziati non si limitarono a mettere a punto tecniche innovative basate sul DNA ricombinante. Ci fu anche chi cominciò a ideare strategie per fornire cellule o costruire tessuti. Nel 1957 Edward Donall Thomas, medico statunitense e Premio Nobel, provò per la prima volta a trattare dei pazienti affetti da leucemia con il trapianto di midollo osseo, un trapianto vero e proprio di cellule staminali ematopoietiche (le cellule del sangue) che oggi rappresenta una terapia curativa. Questo primo trapianto e quelli che seguirono negli anni '60 si rivelarono un enorme fallimento poiché persero la vita molti pazienti, ma segnarono l'inizio di un nuovo filone di ricerca e di una nuova era: quella della terapia cellulare. Nel 1975, i ricercatori James Rheinwald e Howard Green riuscirono a mettere a punto un metodo per coltivare cellule cutanee e ricostruire il primo tessuto in laboratorio: la pelle. Uno studio pionieristico che ha portato, negli anni, alla creazione di tessuti epidermici ingegnerizzati utilizzati per il trattamento di gravi lesioni superficiali.

Cellule e geni: i farmaci "vivi"

I prodotti medicinali di terapia avanzata (Advanced Therapy Medicinal Product, ATMP) - più comunemente chiamate terapie avanzate - sono farmaci veri e propri e rientrano in quattro tipologie di prodotti medicinali: terapia genica, terapia cellulare, ingegneria tissutale (definita come l'utilizzo di cellule o tessuti ottenuti in laboratorio per rigenerare, riparare o sostituire un tessuto umano) e terapie avanzate combinate (che contengono uno o più dispositivi medici come parte integrante del farmaco). Una prima netta differenza rispetto ai farmaci considerati "classici" è che non si parla più di molecole di sintesi chimica prodotte in laboratorio, ma di farmaci "vivi" che si basano su DNA o RNA, cellule e tessuti. Una seconda è che non sono ideati per curare i sintomi delle patologie bensì per intervenire sulle basi genetiche e cellulari, mirando ad una guarigione definitiva.

Con l'avvento della terapia cellulare nasce la branca della medicina rigenerativa, che si pone l'obiettivo di riparare e sostituire organi e tessuti danneggiati. Le cellule staminali sono spesso le protagoniste della terapia cellulare che, per definizione, si basa sull'utilizzo di cellule o tessuti che sono stati manipolati per cambiare le loro caratteristiche biologiche, o su cellule e tessuti non destinati ad essere utilizzati per le stesse funzioni essenziali originali. È importante sottolineare che la terapia cellulare non ha il solo obiettivo di curare, ma può servire anche per diagnosticare o prevenire le malattie. Le staminali sono cellule non ancora differenziate in cellule adulte, che rappresentano una sorta di riserva a cui l'organismo attinge durante la sua crescita e lo sviluppo, per mantenere l'omeostasi e la rigenerazione dei tessuti. Si differenziano in embrionali, che hanno la potenzialità di diventare qualsiasi cellula del corpo (per questo dette pluripotenti) e moltiplicarsi indefinitamente; in staminali adulte o somatiche, che si sono già in parte specializzate e possono diventare un solo tipo di cellule; e in cellule staminali pluripotenti indotte (induced Pluripotent Stem Cells, iPSC), che vengono prodotte artificialmente a partire da cellule adulte già differenziate (ad esempio da quelle della pelle). Le iPSC vengono prodotte di routine nei laboratori grazie ad una tecnica, messa a punto nel 2006, che consente di riprogrammarle geneticamente e farle "tornare indietro nel tempo", trasformandole in cellule staminali che poi potranno differenziarsi in una specifica linea cellulare. La peculiarità di queste cellule è di avere le stesse potenzialità delle staminali embrionali ma senza le problematiche etiche. L'ideazione di tale tecnica di manipolazione genetica, per produrre staminali *ad hoc*, ha portato Shinya Yamanaka e John Gurdon a vincere il Premio Nobel per la Medicina e Fisiologia nel 2012. Più o meno negli stessi anni, le prime terapie cellulari cominciarono ad essere autorizzate per l'immissione in commercio in Europa. La prima terapia a base di cellule staminali autologhe autorizzata in Europa e ancora in commercio è un prodotto della ricerca "made in Italy". Si tratta di Holoclar, sviluppato da Holostem Therapie

Avanzate, uno spin-off dell'Università di Modena e Reggio Emilia, e approvato nel 2015 come prodotto di ingegneria tessutale per il trattamento dei pazienti con gravi ustioni della cornea.

La terapia genica, invece, ha l'obiettivo di trattare una patologia mirando direttamente alle sue basi genetiche e sfrutta in maggior misura la tecnica del DNA ricombinante. Si basa sul concetto del "cavallo di Troia": utilizza un virus, privato del suo genoma virale e reso così innocuo, per veicolare all'interno delle cellule del paziente molecole di acidi nucleici (DNA o RNA), utili per correggere il difetto genetico. Questo avviene inserendo una copia sana del gene "difettoso" (il cosiddetto "gene terapeutico") o modificandone la sua funzione. Si può parlare di terapia genica *ex vivo* se la correzione del gene avviene al di fuori dell'organismo, in questo caso le cellule del paziente vengono prelevate, ingegnerizzate in laboratorio tramite l'utilizzo del vettore virale e, infine, reintrodotte nel paziente stesso. La terapia genica *in vivo* prevede invece che il gene terapeutico sia somministrato direttamente nell'organismo, localmente (ovvero nelle cellule target) o per via sistemica. Dal connubio di cellule staminali e terapia genica, nel 2016 fu approvato nell'Unione Europea Strimvelis, un'altra terapia avanzata "made in Italy" - sviluppata dall'Istituto San Raffaele Telethon per la Terapia Genica (SR-Tiget) - indicata per il trattamento di una gravissima malattia rara nel campo delle immunodeficienze: il deficit dell'enzima adenosina deaminasi (ADA-SCID, Adenosine Deaminase Severe Combined ImmunoDeficiency). Strimvelis è una terapia genica *ex vivo* e si basa sul prelievo delle cellule staminali ematopoietiche del paziente che vengono modificate geneticamente in laboratorio inserendo una copia corretta del gene difettoso grazie a un vettore retrovirale. Le cellule così modificate vengono fatte crescere *in vitro*, per poi essere reinfuse nel paziente. Da allora lo sviluppo delle terapie geniche ha iniziato a correre a grande velocità, prima per lo più verso la cura di malattie rare e dovute a un unico difetto genico, come l'ADA-SCID, ora anche verso patologie più diffuse, come la beta-talassemia o i tumori del sangue.

Curare una patologia con un'unica somministrazione, un sogno nel cassetto

Il termine "trattamento" in medicina indica l'insieme delle terapie e dei provvedimenti adottati nella "cura" di una malattia. Da un punto di vista semantico, dunque, esiste una differenza tra "trattamento" e "cura" in quanto quest'ultima si riferisce in maniera più diretta all'esito ultimo di un trattamento o di una terapia, cioè alla guarigione del paziente. Sulla carta il confine sembra labile e per qualcuno - specie per chi sta vivendo la malattia o per i familiari che forniscono assistenza ai malati - la distinzione tra le due cose non ricopre una grande importanza a fronte delle reali implicazioni della malattia ma quando si parla di terapie avanzate, e in particolare di terapia genica o di terapie a base di cellule CAR-T, la differenza assume un peso specifico significativo.

Ad esempio, le CAR-T, considerate l'ultima frontiera dell'immunoterapia in campo oncologico, detengono un enorme potenziale perché mettono il sistema immunitario nella posizione di contrastare patologie per le quali non esiste alcuna alternativa terapeutica. Sebbene secondo la classificazione dell'Agenzia Europea dei Medicinali (EMA, European Medicines Agency) le CAR-T siano, a tutti gli effetti, un prodotto medicinale di terapia genica, questa innovazione terapeutica può essere concettualmente considerata una combinazione di terapia genica e terapia cellulare. I linfociti T, cellule fondamentali della risposta immunitaria, vengono manipolati geneticamente in modo tale da esprimere uno specifico recettore per l'antigene di membrana - l'antigene CAR, "Chimeric Antigen Receptor" - che li rende in grado di riconoscere e aggredire le cellule tumorali distruggendole. Pertanto, le CAR-T non ambiscono ad essere un trattamento ma una cura definitiva della malattia, dal momento che i principali componenti del sistema immunitario vengono potenziati e rimessi nelle condizioni di svolgere il loro compito di sorveglianza ed eliminazione delle cellule neoplastiche.

Emily Whitehead, una bambina di 7 anni con leucemia linfoblastica acuta (ALL), è stata la prima paziente pediatrica ad essere arruolata in uno studio clinico per testare una terapia CAR-T, sviluppata dal team di Carl June dell'Università della Pennsylvania. Emily ha ricevuto il trattamento sperimentale al Children's Hospital di Philadelphia, nell'aprile 2012, dopo la seconda ricaduta della leucemia. Un trattamento che ha portato alla completa remissione del tumore, ancora ad anni di distanza. Cinque anni dopo è arrivata l'approvazione, nel 2017 dalla Food and Drug Administration (FDA) negli Stati Uniti e nel 2018 dall'EMA in Europa, delle due prime

CAR-T (Fig 1): axicabtagene ciloleucel (chiamata anche axi-cel o con il nome commerciale Yescarta), sviluppata da Kite Pharma (società biofarmaceutica del gruppo Gilead), e tisagenlecleucel (chiamata anche tisa-cel o con il nome commerciale Kymriah) prodotta da Novartis. Queste date segnano un profondo cambiamento per il panorama terapeutico di patologie onco-ematologiche come la leucemia linfoblastica acuta e il linfoma diffuso a grandi cellule B. E la successiva approvazione da parte della FDA, nel luglio 2020, di brexucabtagene autoleucel (nominata commercialmente Tecartus), un'altra terapia a base di cellule CAR-T stavolta contro il linfoma mantellare recidivante o refrattario alla terapia standard, ha allargato il ventaglio terapeutico offrendo nuove possibilità di cura ai pazienti. Infatti, non tutti i pazienti rispondono adeguatamente alla chemioterapia. A tal proposito, quando un paziente non raggiunge la remissione dopo due cicli di terapia aggressiva si definisce affetto da una forma "refrattaria" al trattamento. Per diminuire la probabilità di insorgenza di recidiva in certi casi si ricorre al trapianto allogenico (a base di cellule provenienti da un donatore) di midollo osseo, ma non tutti i pazienti sono nelle condizioni fisiche di affrontarlo e non sempre si trovano un parente stretto o un donatore non consanguineo compatibili.

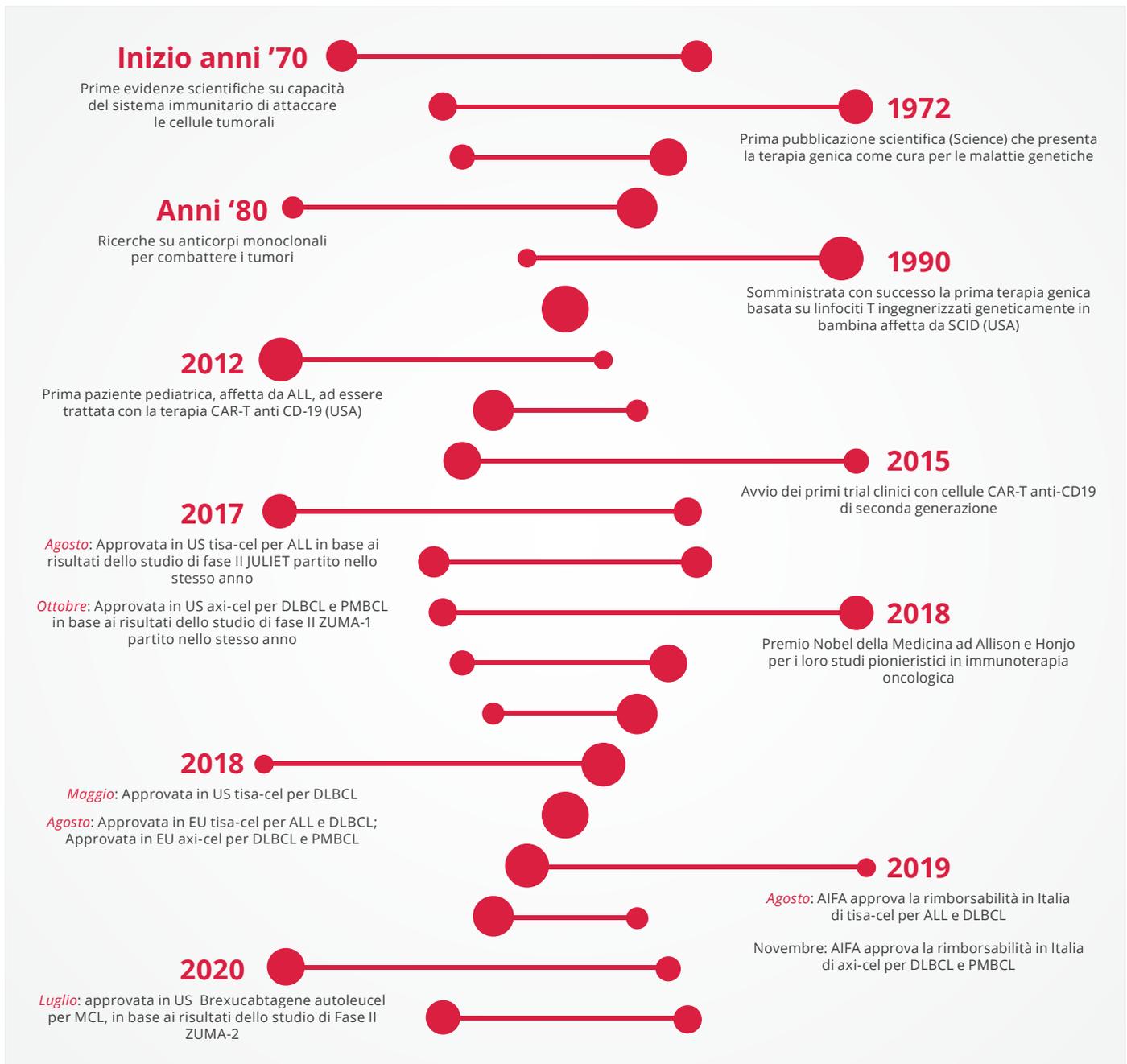


Fig. 1: La rivoluzione delle CAR-T: 50 anni di ricerca
Dalla scoperta del ruolo del sistema immunitario nella lotta ai tumori fino all'approvazione delle prime terapie a base di cellule CAR-T contro linfomi e leucemie.

Conoscere l'iter terapeutico di un paziente affetto da leucemia linfoblastica acuta o da linfoma è necessario per comprendere a fondo la rivoluzione delle CAR-T ed è ancor più necessario aver chiaro quali siano i destinatari di tali terapie che non abbiano mai risposto alla chemioterapia, o che siano in recidiva dopo trapianto di cellule staminali emopoietiche allogeniche o dopo almeno due linee di chemioterapia. Per queste categorie di pazienti non esiste un'opzione di trattamento al di fuori delle CAR-T che, con una singola somministrazione, potrebbero determinare una remissione completa dalla malattia. Fino a qualche anno fa, la possibilità di guarire definitivamente un malato con un'unica (la cosiddetta somministrazione "one shot") o poche somministrazioni di un farmaco era considerata alla stregua della trama di un film di fantascienza, quando non addirittura di un sogno irrealizzabile.

Oggi, terapie come Yescarta e Kymriah rappresentano la concretizzazione di quel sogno dal momento che le procedure di ingegnerizzazione dei linfociti prevedono l'aggiunta non solo del recettore CAR per identificare le cellule tumorali, ma anche di fattori di co-stimolazione che favoriscono una più lunga durata dei linfociti all'interno del corpo umano. Essi possono così amplificarsi ed espandersi restando in circolo per periodi di tempo più lunghi, combattendo la malattia e i suoi tentativi di ripresentarsi. Una volta prelevati dal paziente, attraverso una tecnica detta linfocitoafesi (o leucafesi), i linfociti T vengono destinati a centri di produzione specializzati, manipolati geneticamente per poter esprimere il recettore CAR e i fattori di co-stimolazione e, infine, espansi. Dopo alcune settimane, possono tornare al paziente per essere "reinfusi" nella circolazione sanguigna dell'organismo e svolgere il loro compito. In estrema sintesi, questo è il processo produttivo delle CAR-T e su queste basi il loro successo appare indiscutibile, tanto da aver sancito l'avvento delle terapie del futuro che, in un certo qual modo, rievocano alla memoria l'ideale di una "unica cura" contro il cancro immaginata da medici e ricercatori a metà del secolo scorso. Tuttavia, l'ideale semplicistico di una soluzione per tutti i tipi di male si scontra duramente contro una realtà in cui l'innovazione ha permesso straordinari balzi in avanti ma che non sono privi di ostacoli e di difficoltà che oggi inquadriamo come le più ostiche, e al contempo stimolanti, sfide poste dalle terapie avanzate.

La complessità delle terapie avanzate: produzione, costi ed efficacia a lungo termine

Le procedure per la realizzazione delle CAR-T sono complesse perché, come già anticipato, questi farmaci non sono meri prodotti di sintesi ma terapie personalizzate "vive", nate dalle cellule stesse del paziente. I globuli bianchi (o leucociti) dei malati vengono prelevati, separati dagli altri elementi corpuscolari e spediti - in condizioni di trasporto di estrema sicurezza - presso le officine specializzate per la loro "messa a punto". Queste ultime sono strutture altamente specializzate che rispondono a tutti i requisiti di buona fabbricazione (GMP, Good Manufacturing Practice), all'interno delle quali i globuli bianchi vengono sottoposti ai delicati passaggi di bioingegneria che prevedono la trasfezione con vettori virali attraverso i quali vengono portate all'interno della cellula le informazioni necessarie alla successiva espressione del recettore CAR. Alla riprogrammazione, dovuta all'inserimento di questa speciale sequenza genica, segue un processo di espansione che porta ad ottenere milioni di copie di questi "super linfociti", ora pronti per essere infusi nel corpo del paziente. Ogni fase di questo procedimento richiede strumentazione e tecnologie di ultima generazione che rispondano ai più alti requisiti in termini di sicurezza, affidabilità e precisione. Per capirsi bene, tra i parametri a margine di tolleranza zero c'è, ad esempio, quello della sterilità: se una qualsiasi delle fasi produttive appena citate dovesse subire un processo di contaminazione l'intero prodotto finale potrebbe essere irrimediabilmente compromesso con gravissimi rischi per la già precaria salute del paziente. Un altro passaggio cruciale è quello della preparazione del vettore virale che sarà usato per veicolare le informazioni per "aggiornare" i linfociti T ad una nuova e più efficace versione di sé.

È evidente che una tale complessità di produzione esige uno sforzo economico considerevole che ha, di conseguenza, un impatto sul costo finale della terapia. Axicabtagene ciloleucel e tisagenlecleucel hanno prezzi che ammontano, rispettivamente, a 373.000 e 475.000 dollari sul mercato americano e a oltre 300 mila euro in Italia, cosa che li rende alquanto onerosi per diversi Sistemi Sanitari. E non si tratta nemmeno del costo più alto in assoluto per una terapia avanzata: onasemnogene abeparvovec (nota come Zolgensma), la rivoluzionaria

terapia genica per l'atrofia muscolare spinale (SMA) sviluppata da Avexis, nel 2019 è stata proposta sul mercato statunitense ad un prezzo superiore ai 2 milioni di dollari. Per supportarne tali costi sono necessarie formule di pagamento mai usate prima.

Le terapie geniche come le CAR-T, per le loro caratteristiche di terapie avanzate personalizzate vanno incontro a molte delle problematiche che affliggono i farmaci orfani, tra le quali una ristretta casistica di popolazione che ne possa beneficiare, l'incertezza sul profilo rischio-beneficio e un prezzo di lancio elevato. Al di là dell'aspetto del costo, quindi, uno dei maggiori scogli che le autorità regolatorie si trovano ad affrontare è quello di raccogliere sufficienti prove sulla sicurezza dei nuovi trattamenti. I primi esiti degli studi clinici hanno messo in evidenza risultati notevoli in termini di efficacia, ma non senza eventi avversi gravi (SAE, Serious Adverse Event) e qualche decesso dovuto alle complicanze del trattamento. Tra gli effetti avversi più frequenti e pericolosi, correlati alle CAR-T, c'è la "sindrome da rilascio delle citochine" (CRS, Cytokine Release Syndrome), che si caratterizza per la possibile comparsa di febbre, accompagnata da abbassamento della pressione arteriosa, aumento della frequenza cardiaca, brividi e riduzione dell'ossigeno nel sangue. Le citochine sono molecole ad azione infiammatoria che possono giocare un ruolo nel contrastare il tumore ma, al contempo, possono essere causa di un'intensa reazione esacerbata proprio dalla presenza delle cellule CAR-T nell'organismo. Oltre a questo, nei pazienti trattati con le CAR-T si possono osservare una riduzione del numero dei linfociti B, le cellule responsabili della produzione di anticorpi prese di mira dalle CAR-T, e l'insorgenza di eventi avversi di tipo neurologico anche severi, quali l'encefalopatia.

Come per ogni altro farmaco esistono specifici percorsi di valutazione della sicurezza, ma l'interrogativo più cocente è se quelli pensati per i farmaci di sintesi chimica possano essere adeguati anche per queste terapie avanzate o se siano necessari percorsi *ad hoc*. Le terapie che sfruttano le cellule CAR-T rappresentano una possibilità di cura per pazienti attualmente senza opzioni di trattamento - che perciò le vorrebbero presto disponibili - e, per tale ragione, possono disporre di agevolazioni come quelle del programma PRIME (PRiority MEDicines) dell'EMA per un sostegno regolatorio e un più rapido approdo sul mercato. Tuttavia, va ricordato che si tratta di terapie giovani per cui la disponibilità di dati e informazioni relativi alla sicurezza e all'efficacia provengono da un insieme di campioni sostanzialmente ristretto. Nonostante il loro indubbio valore terapeutico, è necessario continuare a raccogliere dati che permettano di farsi un'idea sempre più precisa del loro impatto sui pazienti.

Infine, ognuno di questi punti di domanda si collega ad un problema di sostenibilità complessiva che nel nostro Paese è stato affrontato in parte con l'abbattimento dei prezzi di queste terapie nel caso di un'estensione delle indicazioni di uso. E in parte con l'adozione di un meccanismo di pagamento particolare, detto "payment at results", che pone al centro della procedura di definizione del prezzo la cura del paziente e il risultato ottenuto dalla terapia. Una formula che prevede l'erogazione da parte del Servizio Sanitario Nazionale (SSN) all'Azienda di un pagamento suddiviso in tranche con il saldo solo ad avvenuta risposta clinica del paziente. In questo modo il pagamento si collega direttamente alla buona riuscita del trattamento, fornendo al sistema sanitario la possibilità di offrire al paziente che ne abbisogna una terapia potenzialmente efficace. Qualora, invece, la terapia non dovesse dare l'esito atteso il sistema sanitario non verserebbe la restante quota all'Azienda, continuando ad erogare i suoi servizi al paziente senza dover per questo sostenere una spesa "doppia". È un primo passo in una direzione ancora parzialmente inesplorata, necessario per capire come portare le terapie avanzate dai laboratori di ricerca alle corsie d'ospedale. C'è ancora molto da conoscere ed imparare prima di poter dare risposte certe circa le potenzialità e i limiti di queste nuove terapie, ma le promesse che le CAR-T portano con sé sono maggiori di quelle dei farmaci che le hanno precedute. L'opportunità di tradurle nella routine clinica potrebbe davvero cambiare il mondo della medicina, aprendo porte fino ad oggi rimaste sbarrate.

Quella appena descritta è una fotografia complessiva dello scenario delle terapie basate su cellule in ambito oncologico. Ma non bisogna dimenticare che, nel momento in cui parliamo di terapie avanzate - tra cui le CAR-T e le diverse varianti, appena illustrate, basate su altri tipi cellulari - ci troviamo spesso di fronte alla combinazione di due tecnologie: la crescita in coltura di specifiche cellule e la loro manipolazione con innovative tecniche di ingegneria genetica. Per la prima volta nella storia della medicina, il farmaco è una cellula vivente, personalizzata e modificata geneticamente, che necessita di nuovi requisiti di sicurezza.

Bibliografia

- Maude S.L., et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2018. 378: 439-448
- Neelapu S.S. et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 2017. 377: 2531-2544
- Frey N, Porter D: Cytokine release syndrome with chimeric antigen receptor T cell therapy. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019; 25:e123-e127
- Whittington M.D. et al. Long-term Survival and Cost-effectiveness Associated With Axicabtagene Ciloleucel vs Chemotherapy for Treatment of B-Cell Lymphoma. *JAMA Network Open.* 2019. 2(2):e190035. doi:10.1001/jamanetworkopen.2019.0035
- FDA Approves First Cell-Based Gene Therapy For Adult Patients with Relapsed or Refractory MCL; Jul 24, 2020. Disponibile a: <https://www.prnewswire.com/news-releases/fda-approves-first-cell-based-gene-therapy-for-adult-patients-with-relapsed-or-refractory-mcl-301099580.html>
- Friedmann T., Roblin R., Gene therapy for human genetic disease? *Science* 1972; 175 (4025): 949-955
- Kohn D.B., Anderson W. F., Blaese R.M., Gene Therapy for Genetic Diseases, *Cancer Investigation*, 1989, 7:2, 179-192, DOI: 10.3109/07357908909038283
- Culver K.W., Anderson W. F., Blaese R.M., Lymphocyte gene therapy. *Human Gene Therapy.* 1991;2(2): 107-109. DOI: 10.1089/hum.1991.2.2-107
- William French Anderson. In: *Enciclopedia Treccani*. Disponibile a: <http://www.treccani.it/enciclopedia/william-french-anderson/>
- Naam R. 'More Than Human'. *New York Times*. 2005 Jul 3. Disponibile a: <https://www.nytimes.com/2005/07/03/books/chapters/more-than-human.html>
- Le Terapie Avanzate approvate in Europa e in Italia. Osservatorio Terapie Avanzate. Disponibile a: <https://www.osservatorioterapieavanzate.it/terapie-approvate>

Capitolo 2



LE CAR-T

L'ULTIMA FRONTIERA DELL'IMMUNOTERAPIA IN AMBITO ONCOLOGICO

Alberto Mantovani

La nascita dell'immunoterapia

Le terapie a base di cellule CAR-T rientrano a pieno titolo nel dominio generale delle terapie immunologiche. E se oggi l'immunoterapia - cioè quella branca che sfrutta alcuni componenti del sistema immunitario per amplificare o sopprimere le risposte immunitarie - occupa un ruolo di primo piano all'interno dell'arsenale medico contro il cancro lo si deve a figure come quella di Paul Ehrlich. Microbiologo e immunologo, Ehrlich è considerato uno dei padri della chemioterapia, tanto che gli fu riconosciuto nel 1908 il Premio Nobel per la Medicina per le sue scoperte dei principi di affinità specifica. I suoi studi lo condussero, infatti, a formulare una prima definizione di "chemioterapia", sostenendo che potessero esistere sostanze artificiali in grado di attaccare direttamente i microbi responsabili della malattia e distruggerli in maniera specifica. C'è Paul Ehrlich dietro la scoperta del "Rosso Trypan" capace di contrastare l'infezione da *Trypanosoma brucei*, parassita responsabile della malattia del sonno, e del "Composto 606" (poi rinominato Salvarsan), contro il *Treponema pallidum*, agente eziologico della sifilide. Studiando i coloranti chimici, lo studioso tedesco era riuscito a trovare il modo di impiegare delle sostanze - che lui stesso soprannominava "pallottole magiche" - contro alcuni batteri, inoltrandosi su una strada che negli anni a venire avrebbe stravolto l'approccio alla malattia. Tuttavia, la cellula cancerosa si rivelò una sfida molto più impervia.

Coloro che sono considerati i padri dell'immunologia avevano visto la portata dei vaccini e come essi avessero radicalmente cambiato la lotta alle malattie infettive. Da quando Edward Jenner, sul fine del Settecento, aveva inoculato il virus del vaiolo vaccino in un bambino di otto anni, James Phipps, esponendolo successivamente al contatto con il vaiolo umano e dimostrandone così l'immunità acquisita, il sogno di coloro che studiavano il sistema immunitario fu quello di impiegare le terapie immunologiche contro il cancro. In questo senso, le "pallottole magiche" di Ehrlich rappresentano gli anticorpi, cioè le specifiche proteine che i linfociti B (cellule del sangue che costituiscono il sistema immunitario) producono in risposta ad una stimolazione da parte di sostanze estranee al nostro organismo. Ma da quando, a fine Ottocento, Emil von Behring e Shibasaburō Kitasato hanno immunizzato i primi animali contro la difterite, iniettando loro il siero di un cavallo guarito dalla malattia, al momento in cui, meno di cento anni dopo, César Milstein e Georges Köhler diedero vita alla metodologia per la creazione degli anticorpi monoclonali è trascorso un lungo intervallo di tempo, costellato purtroppo da ripetuti

fallimenti. Gli anticorpi monoclonali hanno subito dato l'impressione di poter essere impiegati per attaccare le cellule tumorali, ma il processo che li ha portati al letto del paziente non è stato breve e nemmeno semplice. Tanto che, all'inizio del nuovo millennio, aleggiava ancora un certo scetticismo all'interno della comunità scientifica - e in particolare tra gli oncologi - nei confronti di coloro che ritenevano che l'immunologia potesse condurre a benefici clinici contro i tumori se non in chiave diagnostica. Addirittura, quando nel 2000 Douglas Hanahan e Robert A. Weinberg pubblicarono sulla rivista scientifica *Cell* il celebre articolo "The hallmarks of Cancer", descrivendo i sei punti chiave di una possibile mappa della ricerca sul cancro, il sistema immunitario non fu nemmeno elencato, come se la sua rilevanza fosse del tutto marginale. Chi scrive riteneva che ci fosse un "settimo sigillo" del cancro, l'infiammazione e le cellule infiammatorie nel microambiente tumorale (*Nature*, 2008 e *The Lancet*, 2001).

Vi è stato dunque un grande cambiamento di paradigma: il cancro non è solo la cellula neoplastica, altrettanto importante è la nicchia ecologica intorno alla cellula tumorale, di cui fanno parte i componenti del sistema immunitario. A questo cambiamento di paradigma si è affiancata la scoperta dei "freni" del sistema immunitario: vale a dire quelle molecole che agiscono a tutti i livelli dell'organismo - dalle cellule dendritiche ai linfociti - per interrompere l'attacco rivolto contro i patogeni o le cellule considerate estranee una volta che l'esito dello stesso fosse stato giudicato soddisfacente. Un tale approccio potrebbe essere considerato valido anche per affrontare alcune patologie autoimmuni che colpiscono diversi organi del nostro organismo, come il lupus eritematoso sistemico (LES). L'identificazione delle molecole capaci di spegnere la risposta immunitaria ha permesso di guardare con occhi nuovi alle potenzialità del nostro sistema di difesa, corroborando gli studi di coloro che si stavano occupando di immunologia dei tumori. Pierre Goldstein, nel 1987, scoprì il CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4), uno dei freni del nostro sistema immunitario, e Jim Allison, in modelli di studio del melanoma, dimostrò che l'uso di anticorpi monoclonali diretti contro tale antigene poteva impedirgli di essere riconosciuto da parte delle molecole preposte ad attivarlo. Ciò generava una risposta tale da condurre alla regressione del tumore. Quando anche Tasuku Honjo scoprì il PD-1 fu chiaro che la via per usare il sistema immunitario contro il tumore era stata tracciata. Nel 2018 l'assegnazione del Premio Nobel per la Medicina a Jim Allison e Tasuku Honjo "per le loro scoperte di una terapia del cancro mediante l'inibizione della regolazione immunitaria negativa" ha suggellato anni di sforzi e ricerche restituendo dignità e prestigio all'immunologia, settore sulla quale si focalizzarono gli sguardi dell'intera comunità scientifica intenta a studiare nuove opzioni di ricerca contro il cancro.

L'arrivo delle CAR-T

Già tra le fine degli anni Sessanta e l'inizio degli anni Settanta del secolo scorso, era stato osservato che le cellule del sistema immunitario hanno la capacità di uccidere le cellule tumorali. Il principale ostacolo al loro utilizzo clinico era costituito dal trovare un modo per arrestare la loro azione una volta che le cellule bersaglio fossero state eliminate. Individuando le molecole che emettono un segnale di stop alla risposta immunitaria, gli scienziati hanno così gettato le basi per la creazione delle terapie cellulari in ambito oncologico. A questo punto, la possibilità di prelevare i linfociti T, ovvero i soldati in prima linea del sistema immunitario, per addestrarli e spingerli a combattere contro le cellule tumorali non era più solo un'utopia o, per citare Fëdor Dostoevskij, "il sogno di un uomo ridicolo" bensì una prospettiva concreta, possibile. Anche se, purtroppo, allora non era così vicina come molti scienziati si auguravano: per cinquant'anni abbiamo sperato di vedere i linfociti di diverse classi o i macrofagi uccidere le cellule tumorali *in vivo*, nel corpo dei pazienti, e oggi l'approvazione delle CAR-T negli Stati Uniti e in Europa quale strumento di lotta al cancro può essere interpretata come la realizzazione di quel sogno.

Come sono fatte e come funzionano le CAR-T

La possibilità di far crescere le cellule in coltura aveva fornito l'ulteriore e indispensabile spinta per far decollare l'ambizioso progetto di sfruttare le cellule del sistema immunitario contro il cancro. In particolare, all'inizio del

nuovo millennio fu Malcolm Brenner del Baylor College of Medicine di Houston a pensare di usare i linfociti T, proprio per la loro elevata capacità di riconoscere i virus, prelevandoli dagli individui affetti da linfoma delle cellule B provocato dal virus di Epstein-Barr e resistenti alle terapie convenzionali. L'idea funzionò e presto si prese a pensare di riproporre la stessa operazione anche per contrastare le cellule tumorali. Il concetto nella sua strutturazione appare semplice da immaginare e comprendere (Fig. 2): le terapie a base di cellule CAR-T sono terapie vive, prodotte partendo dagli stessi linfociti T del paziente, che vengono appositamente ingegnerizzati per esprimere sulla loro superficie il Recettore Chimerico dell'Antigene (CAR), una struttura non presente in natura, costituita da un anticorpo monoclonale prodotto a partire dall'antigene di differenziazione CD19 delle cellule B a sua volta accoppiato a un segnale di trasduzione. Ecco che la struttura di riconoscimento anticorpale funge da sensore collegato ad un sistema interno di attivazione del segnale citotossico delle cellule T, cosicché nel momento in cui avviene il legame antigene-anticorpo il linfocita T riconosce la cellula tumorale avviando una risposta immunitaria virtuosa in grado di superare quei meccanismi di evasione e di resistenza che le cellule neoplastiche stesse mettono in atto per proliferare indisturbate.

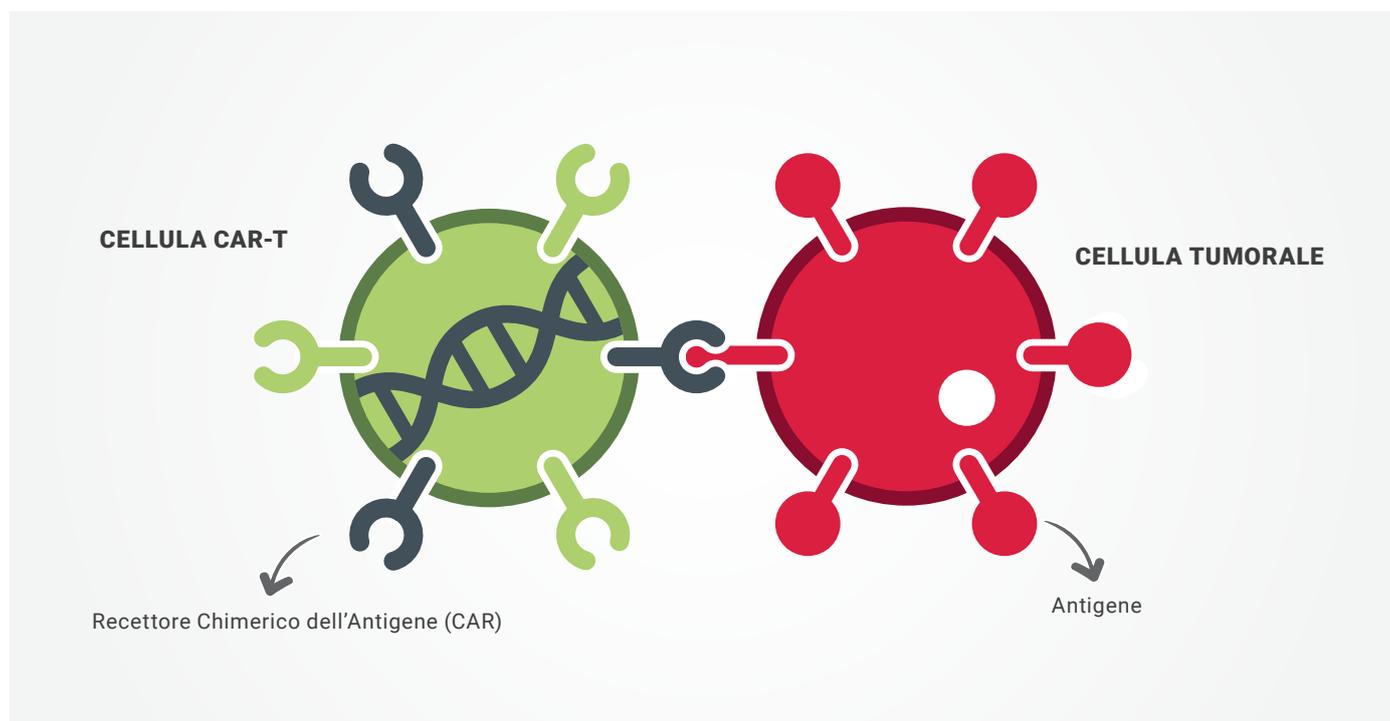


Fig. 2: La cellula CAR-T.

Il processo di manipolazione genetica determina l'espressione sulla superficie del linfocita T del recettore chimerico dell'antigene (CAR) [in verde scuro]. Questo permette di riconoscere l'antigene specifico della cellula tumorale e avviare il processo di attacco.

Uno dei pionieri dell'evoluzione di questo tipo di terapia è stato Steve Rosenberg che, al National Institutes of Health (NIH) negli Stati Uniti, per molto tempo aveva cercato di sviluppare una terapia cellulare isolando i linfociti T dalla sede del tumore. Inizialmente la sua teoria si basava sull'attivazione e sull'infusione di cellule chiamate "LAK" - in realtà cellule Natural Killer (NK), una classe di cellule citotossiche del sistema immunitario - ed ebbe il pregio di confermare che era possibile coltivare le cellule facendole crescere *in vitro* per poi infonderle nei pazienti. Ma fu nel momento in cui egli orientò i suoi sforzi sul risveglio dei linfociti T che colse risultati decisivi, con l'espressione di una risposta immunitaria in modelli di studio di melanoma. Si deve, però, a Carl June, immunologo statunitense dell'Università della Pennsylvania, la costruzione dell'antigene CAR in grado di riconoscere l'antigene CD19 espresso sulle cellule tumorali dei tumori del sangue. L'obiettivo di June era trovare una cura per i bambini affetti dalle forme di leucemia linfatica acuta refrattarie alla terapia standard, e sulla base di questo mise a punto il recettore CAR diretto contro l'antigene CD19.

Ma a fronte di un iniziale successo dovette affrontare uno degli eventi avversi più frequentemente associati alla terapia con le cellule CAR-T: la sindrome da rilascio delle citochine, un'intensa risposta infiammatoria provocata da un'eccessiva risposta immunitaria che si sviluppa in seguito all'attivazione delle CAR-T nell'organismo.

I sintomi possono essere anche molto gravi e pericolosi per la vita del paziente. Una straordinaria coincidenza, dovuta al fatto che il figlio affetto da artrite reumatoide fosse in cura con farmaci che bloccano l'espressione dell'interleuchina-6 (IL-6), lo portò a suggerire di usare lo stesso trattamento anche per sedare la tempesta citochinica, contraddistinta da elevati livelli di IL-6, in atto nei pazienti trattati con le CAR-T. In parallelo, Michel Sadelain, al Memorial Sloan Kettering di New York, aveva sviluppato e portato in clinica un'altra versione di CAR-T. Nel lungo percorso a tappe, durante il quale è stato perfezionato il recettore chimerico delle cellule T, l'altro contributo sostanziale è giunto da Zelig Eshhar, un ricercatore israeliano che migliorò notevolmente la capacità del recettore CAR di riconoscere i linfociti.

Occorre però comprendere che l'ottimizzazione e l'ingegnerizzazione del recettore CAR non è un processo concluso, bensì ancora in corso d'opera. Al punto che oggi esistono diverse generazioni del recettore CAR, il quale è stato via via migliorato per consentire un'attivazione più specifica e sicura dei linfociti T contro le cellule tumorali. Procedendo attraverso un tortuoso percorso a tappe e intrecciandosi con inimmaginabili elementi di "serendipity", il sogno di usare le difese immunitarie contro il tumore si è dunque fatto realtà.

CAR-T, tra promesse e sfide

I linfociti T sono dei professionisti nel riconoscere ed eliminare virus e molecole estranee al nostro organismo. Il concetto che una cellula cancerosa possa essere altrettanto considerata come un elemento estraneo - e quindi di cui sbarazzarsi - aiuta a comprendere come funzionino le terapie CAR-T. Infatti, una struttura di riconoscimento - l'ormai noto recettore di cui abbiamo parlato poc'anzi - attiva i linfociti T, fornendo loro la licenza di uccidere le cellule tumorali. Grazie alle CAR-T è radicalmente cambiato il trattamento di alcune forme di leucemia e di certi linfomi, sia del bambino che dell'adulto. Tuttavia, le sfide delle terapie immunologiche rimangono tante e, per superarle e vincere la guerra al cancro, serve prima di tutto proiettarsi verso la conquista di nuove frontiere che consentiranno, da un lato, di migliorare e rendere sempre più efficaci e sicure queste nuove terapie e, dall'altro, di applicarle a un numero sempre crescente di patologie, giungendo finalmente a contrastare i tumori solidi.

La prima di queste frontiere consiste proprio nell'ottimizzazione e nel miglioramento dei costrutti e delle strategie, coinvolgendo realtà di tipo accademico ed entità industriali alla costante ricerca di un equilibrio che consenta di portare con la massima sicurezza le terapie avanzate come le CAR-T al letto del paziente. Non è un processo semplice, sia a causa delle complesse modalità di preparazione di queste terapie che della capillare valutazione del rischio ad esse associato. La risposta immunitaria corre sempre sulla lama di rasoio tra effetto benefico e tossicità eccessiva. L'impatto delle cellule CAR-T può suscitare reazioni infiammatorie violente da parte dell'organismo, come la "sindrome da rilascio delle citochine" che può addirittura richiedere il ricovero in unità di terapia intensiva. È una delle ragioni per cui dobbiamo continuare a studiare gli indubbi benefici di queste terapie, senza trascurare di guardare al loro lato oscuro, nel costante sforzo di individuare soluzioni che ne migliorino non soltanto l'efficacia ma anche la sicurezza. In tal senso, l'attenzione è tutta indirizzata sull'ingegnerizzazione dei freni del sistema immunitario e sulle molecole come CTLA-4, PD-1 e PDL-1/PDL-2, che possono bloccarli.

Le CAR-T del futuro: dai tumori del sangue a quelli solidi

La seconda frontiera da abbattere è quella dei tumori solidi, che costituiscono un'autentica sfida dal punto di vista della terapia cellulare, sia per l'identificazione degli antigeni e delle strutture di riconoscimento maggiormente efficaci per la costruzione di un recettore chimerico da usare nello sviluppo di nuove terapie, sia per le modalità con cui superare le barriere fisiche innalzate dal tumore stesso. Leucemie e linfomi sono neoplasie del sangue nelle quali le cellule da prelevare e combattere risultano molto più accessibili rispetto ai tumori solidi, spesso difficili da raggiungere per il groviglio di vasi sanguigni che creano intorno ad essi. Basti pensare, ad esempio, al cancro del pancreas o a quello della mammella che edificano dei muri fibrosi a loro protezione, impedendo ai linfociti T di raggiungere le cellule tumorali, e contro i quali negli ultimi anni sono

stati compiuti scarsi progressi sia dal punto di vista diagnostico che terapeutico. Non è semplice far giungere le cellule del sistema immunitario nella giusta quantità nei pressi del tumore, anche perché nel microambiente tumorale risultano attivi meccanismi di soppressione della risposta immunitaria mediati dalla cellula tumorale stessa.

Quelli elencati sono solamente alcuni dei motivi che spiegano come lo sviluppo delle terapie CAR-T contro i tumori solidi presenti ai ricercatori difficoltà uniche e straordinarie. Ecco perché, sono attualmente in studio strategie analoghe a quelle che utilizzano i linfociti T potenziati, ma orientate su altre cellule del sistema immunitario con caratteristiche diverse e che, pertanto, potrebbero costituire una strategia complementare a quella delle CAR-T. Un primo approccio tra i più innovativi si basa sulle cellule Natural Killer (NK), che fanno parte dell'immunità innata e sono dotate di licenza di uccidere. Le ricerche di Lorenzo Moretta, dell'Ospedale Bambino Gesù di Roma, hanno apportato un fondamentale contributo alla comprensione e all'identificazione delle strutture di riconoscimento e della modalità con cui si attivano e operano le cellule NK. Ad oggi, oltre che nel nostro Paese, anche in Svezia è in corso una febbrile attività di ricerca sulle modalità attraverso cui sfruttare in maniera mirata il potenziale delle cellule NK nella lotta ai tumori: la filosofia è la stessa delle CAR-T solo che, piuttosto che ingegnerizzare i linfociti T, ad essere modificate sono le cellule NK. Si chiamano CAR-NK e hanno un alto potere di uccisione di tutto ciò che è estraneo al nostro organismo.

Un altro approccio interessante è quello che si rifà all'uso delle CIK (Cytokine-Induced Killer), un insieme di varie popolazioni di cellule T attivate da un cocktail di citochine. Questa strategia, sviluppata dal gruppo di lavoro di Alessandro Rambaldi (Bergamo) e Andrea Biondi (Monza), si sta rivelando all'avanguardia e sta dando risultati di grande interesse nel contesto di diverse sperimentazioni cliniche sui tumori del sangue. Sia le CAR-NK che le CIK - e le CAR-CIK - sono al centro di ampio interesse perché sono fondamentalmente terapie "off-the-shelf", ovvero basate su cellule eterologhe capaci di fornire trattamento ad un elevato numero di pazienti affetti da tumore partendo dal singolo lotto derivante da un donatore sano. Una strategia che esclude la fase di personalizzazione delle cellule (con il prelievo, la modifica e la reinfusione nel malato) e promette di rivoluzionare le modalità produttive di queste nuove terapie, rendendole anche più sostenibili in termini economici. Allo stato attuale delle cose, ognuna di esse è ancora ferma ad uno stadio di ricerca per cui sarà necessario attendere la definitiva dimostrazione di efficacia e fattibilità all'interno di studi clinici randomizzati, ma i primi risultati ottenuti sono ampiamente incoraggianti.

L'ultimo approccio in via di sviluppo, gemmato dall'idea delle CAR-T, è quello delle CAR-M che si basa sulla medesima logica delle CAR-T, salvo che le cellule selezionate per essere ingegnerizzate ed esprimere una struttura di riconoscimento appositamente progettata sono i macrofagi, cellule del sistema immunitario che hanno il ruolo di fagocitare gli agenti patogeni o le cellule identificate come estranee. La ragione di questa scelta è legata al fatto che tutti i tumori presentano un'infiltrazione - spesso molto importante - da parte di cellule macrofagiche, che vengono reclutate dal sangue circolante. Li chiamano macrofagi tumore-associati (TAM, Tumor-Associated Macrophage) e sono una popolazione immunitaria riscontrata in molti tipi di tumore solido, associati ad una prognosi non favorevole. Infatti, i TAM interferiscono con l'azione dei linfociti T citotossici agevolando la progressione tumorale. Pertanto, i ricercatori hanno ipotizzato che una tale opera di reclutamento potrebbe costituire un punto debole del tumore e consentire a cellule specificamente ingegnerizzate di superare le barriere fisiche del tumore e fungere da veri e propri cavalli di Troia dotati di un recettore di riconoscimento (CAR) che consenta loro di riconoscere la cellula cancerosa e distruggerla.

CAR-T: una combinazione tra terapia genica e terapia cellulare

Queste terapie stanno cambiando il paradigma stesso di farmaco, dimostrando a medici, ricercatori e pazienti che la macchina volante può effettivamente volare e facendo veleggiare i sogni verso un continente nuovo, tutto da esplorare e ricco di straordinarie promesse quale è quello delle terapie immunologiche contro il cancro. Ecco perché si può serenamente affermare che le CAR-T siano solo il principio di uno splendido viaggio e che il meglio debba ancora arrivare.

Bibliografia

- Hanhan D., Weinberg R.A. The Hallmarks of Cancer. *Cell*, 2000. 100(1): 57-70
- Hanhan D., Weinberg R.A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 2000. 144: 646-674
- Mantovani A. et al. Cancer-Related Inflammation. *Nature*, 2008. 454: 436-444
- Balkwill F., Mantovani A. Inflammation and Cancer: Back to Virchow? *The Lancet*, 2001. 357: 539-545
- Mantovani A. Bersaglio Mobile: il ruolo del sistema immunitario nella lotta al cancro. Baldini & Castoldi, 2018
- Li Y., et al. Human iPSC-Derived Natural Killer Cells Engineered with Chimeric Antigen Receptors Enhance Anti-tumor Activity. *Cell Stem Cell.*, 2018; 23(2): 181-192
- Daher M., Rezvani K. Next generation natural killer cells for cancer immunotherapy: the promise of genetic engineering. *Current Opinion in Immunology*, 2018. 51: 146-153
- Magnani C.F. et al. Donor-Derived CD19 CAR Cytokine Induced Killer (CIK) Cells Engineered with Sleeping Beauty Transposon for Relapsed B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia (B-ALL). *Blood* 2019.134(1): 200
- Klichinsky M. Human chimeric antigen receptor macrophages for cancer immunotherapy. *Nature Biotechnology*. 2020 Mar 23;38(8):947-953. DOI: 10.1038/s41587-020-0462-y
- The Nobel Assembly at Karolinska Institutet has today decided to award the 2018 Nobel Prize in Physiology or Medicine jointly to James P. Allison and Tasuku Honjo for their discovery of cancer therapy by inhibition of negative immune regulation. 2018. Disponibile a: <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/10/press-medicine2018.pdf>

Capitolo 3



LA SICUREZZA DELLE TERAPIE A BASE DI CELLULE CAR-T

Pier Luigi Zinzani

La terapia a base di cellule CAR-T anti-CD19, rappresenta la prima forma di terapia genica approvata per il trattamento della leucemia linfoblastica acuta (LLA) a cellule B e di alcune forme aggressive di linfoma non-Hodgkin di derivazione B linfocitaria, dimostrandosi estremamente efficace laddove la chemioterapia convenzionale ed altre forme di immunoterapia e di terapia cellulare hanno fallito. Il concetto che sta alla base di questa terapia così innovativa consiste nel rieducare e potenziare il sistema immunitario e suscitare una risposta immunitaria contro le cellule neoplastiche. Tale terapia, proprio per la sua grande efficacia e potenza, non è scevra da rischi ed effetti collaterali, anche gravi.

In particolare, si distinguono:

- Gli effetti collaterali immunomediati, ossia la sindrome da rilascio delle citochine (CRS, Cytokine Release Syndrome) e la tossicità neurologica (ICANS, Immune Effector Cells Associated Neurotoxicity Syndrome);
- Effetti collaterali "on-target", come l'aplasia B cellulare e l'ipo-gammaglobulinemia secondaria, dovuti alla persistenza in circolo di cellule CAR-T dirette contro il CD19, con conseguente aumentato rischio infettivo, anche nel lungo termine;
- Citopenie² mono-, bi- o tri-lineari favorite dalle precedenti linee di trattamento, dalla chemioterapia linfodepletante preparatoria alla re-infusione dei linfociti T ingegnerizzati e, infine, dallo stato infiammatorio che si instaura in corso di CRS e/o ICANS.

Di seguito si riassumono i dati relativi agli studi clinici registrativi delle terapie CAR-T attualmente disponibili sul mercato europeo.

² Con il termine citopenia si intende una riduzione del numero di cellule di un tessuto. Generalmente ci si riferisce al sangue o al midollo osseo. La riduzione può riguardare i globuli rossi, bianchi o le piastrine. O tutti e tre i gruppi.

Sindrome da rilascio delle citochine (CRS)

La sindrome da rilascio delle citochine viene definita come una risposta sovra-fisiologica secondaria all'attivazione e al reclutamento di linfociti T endogeni e/o reinfusi e di altre cellule immunitarie. Tale evento avverso rappresenta l'altra faccia della medaglia di una terapia che basa la propria efficacia sull'azione delle cellule immunitarie effettrici e sul rilascio, da parte di queste ultime, di molecole dell'infiammazione quali le interleuchine 6 (IL-6) e 1 (IL-1), che hanno lo scopo di sostenere ed ampliare la risposta citotossica stessa. In particolare, ad oggi, IL-6 è stata riconosciuta come la citochina chiave di tale sindrome. La CRS è stata descritta in una percentuale variabile tra il 58% e il 93% dei pazienti sottoposti a terapia CAR-T, di cui l'11-22% ha sviluppato una forma severa (di grado³ ≥ 3). Il tempo mediano di insorgenza è di 2-3 giorni (range: giorni 1-12) dalla reinfusione del prodotto cellulare con una risoluzione che solitamente si realizza in 7 o 8 giorni (range: giorni 2-29). I sintomi della CRS possono essere rapidamente progressivi e, all'esordio, includono la febbre, a cui si possono associare ipotensione, ipossia e disfunzioni d'organo. Proprio per il suo meccanismo patogenetico e per la sintomatologia con cui si manifesta, la CRS entra in diagnosi differenziale con la sepsi, che pertanto deve sempre essere esclusa. Inoltre, essa può associarsi o indurre leucopenia e neutropenia (rispettivamente, una riduzione del numero di globuli bianchi e di neutrofili nel sangue), concorrendo pertanto ad aumentare il rischio infettivo del paziente sottoposto a CAR-T.

Il trattamento della CRS varia a seconda della gravità dei sintomi partendo da una terapia di supporto fino ad arrivare, in caso di CRS moderata o severa (grado ≥ 2), all'utilizzo di farmaci specifici atti a ridurre i livelli di citochine in circolo quali tocilizumab (un inibitore selettivo del recettore per IL-6) associato o meno a corticosteroidi.

Tossicità neurologica (ICANS)

Eventi neurologici sono stati osservati in una percentuale variabile dal 21% al 64% dei pazienti sottoposti a terapia con CAR-T, e il 12-32% ha sviluppato sintomi severi (grado ≥ 3). Nella maggioranza dei casi tale tossicità si presenta entro le 8 settimane successive - con rif. a Kymriah - alla somministrazione dei linfociti CAR-T e ha una durata media di 14 giorni (range: giorni 1-191). Spesso si sviluppa in corso o subito dopo la risoluzione della CRS, mentre i casi di neurotossicità isolata sono rari e solitamente di basso grado. I sintomi possono variare da una semplice cefalea, passando per uno stato di agitazione e disorientamento, afasia espressiva, crisi epilettiche, fino ad un quadro più grave di encefalopatia e edema cerebrale.

Il meccanismo con cui tale tossicità si instaura non è ancora del tutto chiaro sebbene costituiscano fattori associati ad un maggior rischio di ICANS: la presenza di una CRS - e quindi di uno stato infiammatorio sistemico - un grado di malattia elevato prima dell'infusione delle terapie CAR-T, una rapida espansione dei linfociti T ingegnerizzati *in vivo* e la presenza di comorbidità neurologiche. Il trattamento della neurotossicità varia a seconda della gravità dei sintomi, in particolare l'utilizzo di corticosteroidi ad alte dosi è ad oggi l'unica terapia standardizzata nella gestione di pazienti con tossicità di grado ≥ 2, associato a terapia di supporto per la gestione dei sintomi. Nei casi gravi e refrattari alla terapia steroidea, è sempre più evidente l'efficacia di anticorpi monoclonali atti a inibire l'effetto delle principali citochine pro-infiammatorie, sebbene il loro utilizzo in questo senso sia ad oggi "off-label"⁴. In particolare, anticorpi diretti contro IL-6 (siltuximab) o inibitori del recettore dell'IL-1 (anakinra), hanno dimostrato una efficacia nel trattamento dei pazienti con neurotossicità. Al contrario, l'utilizzo di tocilizumab sembra peggiorare la sintomatologia neurologica favorendo l'aumento dei livelli di IL-6 nel sangue, impedendo il legame tra IL-6 ed il suo recettore.

³ Nel corso di un trial clinico le reazioni avverse che possono insorgere sono distinte sulla base della gravità: quelle di grado 1, più leggere, generalmente non richiedono interventi terapeutici specifici; quelle di grado 2, moderate, possono richiedere qualche forma di assistenza; quelle di grado 3, severe, richiedono assistenza medica e, in certi casi, anche l'ospedalizzazione; e quelle di grado 4, considerate molto gravi, necessitano di assistenza di tipo intenso e intervento medico, rendendo spesso necessaria l'ospedalizzazione del paziente.

⁴ Il termine indica un utilizzo nella pratica clinica di farmaci già registrati dagli enti regolatori predisposti ma utilizzati in maniera non conforme, per patologia, popolazione o posologia, alle condizioni autorizzate.

Aplasia B cellulare ed ipo-gammaglobulinemia

La riduzione numerica dei linfociti B rappresenta una tossicità "on-target", ovvero dovuta al funzionamento della terapia stessa, delle CAR-T dirette contro il CD19, espressa appunto sia sui linfociti B tumorali che sui linfociti B "sani". L'aplasia B cellulare si manifesta concretamente con una riduzione del livello di immunoglobuline sieriche, riscontrata nel 16-47% dei pazienti affetti da linfoma non-Hodgkin diffuso a grandi cellule B, dopo 1-3 mesi dalla somministrazione di terapia CAR-T. Tale evento, che si manifesta anche a distanza dalla terapia, è espressione della persistenza in circolo delle cellule CAR-T, nonché della loro efficacia. Infatti, l'insorgenza di un quadro di ipo-gammaglobulinemia sembra essere associata ad una maggiore probabilità di ottenere e mantenere una risposta completa. Il paziente con ipo-gammaglobulinemia è a maggior rischio di infezioni opportunistiche, virali o batteriche, pertanto viene suggerita una terapia sostitutiva (IgG infusione 0,3 mg/kg ogni mese) in quei soggetti con valori di IgG < 400 mg/dL e/o episodi infettivi severi o ricorrenti.

Citopenie mono-, bi- o tri-lineari

L'instaurarsi di una neutropenia associata o meno a piastrinopenia (riduzione del numero di piastrine nel sangue) e, più raramente, ad anemia (riduzione del numero di globuli rossi) rappresenta l'evento avverso più comune nei pazienti sottoposti a terapia CAR-T. In particolare, dal 64% al 78% dei pazienti sottoposti a terapia con cellule CAR-T anti-CD19 hanno sviluppato una neutropenia di grado ≥ 3 (neutrofili < 1000/mm³) mentre l'11-38% ha sperimentato una piastrinopenia da moderata a severa (piastrine < 50.000/mm³). Tale evento sembra essere secondario sia al regime di condizionamento alla re-infusione dei linfociti CAR-T, sia alla tempesta citochinica in corso di CRS, che al numero di linee terapeutiche a cui il paziente è stato precedentemente sottoposto. L'utilizzo di fattore di crescita granulocitario viene sconsigliato durante le prime tre settimane dopo la re-infusione in quanto potrebbe innescare l'instaurarsi di CRS o, comunque, è controindicato in corso di CRS o neurotossicità. Mentre il supporto trasfusionale può e deve essere garantito, una profilassi antibiotica ed antifungina viene suggerita fino ad un recupero granulocitario stabile, così come una terapia di profilassi antivirale e contro la riattivazione di *Pneumocystis jirovecii* (microorganismo responsabile di polmoniti nei pazienti immunodepressi) viene consigliata fino a 6 mesi-1 anno dopo la terapia con cellule CAR-T.

È evidente come una terapia così complessa, sia in termini terapeutici che di eventi collaterali, abbia bisogno di un team multidisciplinare per essere gestita. Pertanto, è fondamentale la creazione di un gruppo di lavoro costituito da ematologi, medici trasfusionisti, biologi, farmacisti ma anche neurologi, rianimatori, radiologi e infettivologi che lavorino in modo integrato allo scopo di prevenire, gestire e risolvere gli eventi avversi correlati alla re-infusione delle cellule CAR-T.

Bibliografia

- Locke F.L. et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1-2 trial. *The Lancet Oncology*, 2019. 20(1): 31-42
- Schuster S.J. et al. Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *The New England Journal of Medicine*, 2019. 380(1): 45-56
- Borrega J.G. et al. In the Eye of the Storm: Immune-mediated Toxicities Associated With CAR-T Cell Therapy. *Hemasphere*, 2019. 3(2): e191
- Faramand R. et al. Prediction of CAR T-Related Toxicities in R/R DLBCL Patients Treated with Axicabtagene Ciloleucel Using Point of Care Cytokine Measurements. *Blood*, 2018. 132 (suppl-1): 95
- Grupp S.A. et al. Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells for Acute Lymphoid Leukemia. *The New England Journal of Medicine*, 2013. 368(16): 1509-1518
- Lee D.W. et al. ASTCT Consensus Grading for Cytokine Release Syndrome and Neurologic Toxicity Associated with Immune Effector Cells. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2019. 25(4): 625-638
- Yakoub-Agha I. et al. Management of adults and children undergoing chimeric antigen receptor T-cell therapy: best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE). *Haematologica*, 2020.105(2): 297-316
- Santomaso B.D., et al. Clinical and Biological Correlates of Neurotoxicity Associated with CAR T-cell Therapy in Patients with B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Discovery*, 2018. 8(8): 958-971
- Gust J. et al. Endothelial Activation and Blood-Brain Barrier Disruption in Neurotoxicity after Adoptive Immunotherapy with CD19 CAR-T Cells. *Cancer Discovery*, 2017. 7(12): 1404-1419
- Hunter C.A. & Jones S.A. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nature Immunology*, 2015. 16(5): 448-457
- Norelli M, et al. Monocyte-derived IL-1 and IL-6 are differentially required for cytokine-release syndrome and neurotoxicity due to CAR T cells. *Nature Medicine*, 2018. 24(6): 739-748

Capitolo 4



LA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA IN ETÀ PEDIATRICA

Franca Fagioli

Leucemia linfoblastica acuta: epidemiologia e descrizione

La cura della leucemia linfoblastica acuta (LLA) a cellule B rappresenta uno dei più importanti successi della ricerca scientifica medica: oggi più dell'85% dei bambini a cui viene diagnosticata questa patologia ottiene la guarigione. Si tratta di una storia iniziata oltre 50 anni fa, quando la probabilità di guarire per questi pazienti era inferiore al 10%.

Le leucemie rappresentano circa un terzo delle neoplasie pediatriche nei Paesi industrializzati. Nei bambini (0-14 anni) sono la patologia tumorale più frequente, seguita da tumori cerebrali, linfomi, neuroblastomi, sarcomi, tumori ossei e renali. Negli adolescenti (15-19 anni) la leucemia rappresenta la terza neoplasia più frequente, preceduta dai linfomi di Hodgkin e dai carcinomi della tiroide e seguita dai tumori a cellule germinali, linfomi non-Hodgkin, melanomi, tumori cerebrali, sarcomi delle parti molli, tumori ossei, tumori renali e tumori epatici. La LLA, in particolare, costituisce l'80% dei casi di leucemie acute, con circa 400 nuove diagnosi all'anno nella fascia da 0 a 17 anni in Italia, con un'incidenza complessiva di 36,7 casi per milione di persone di età inferiore ai 20 anni e con un tasso di incidenza standardizzato per età di 43,5 casi per milione nella fascia da 0 a 14 anni, e di 15,1 casi per milione nella fascia da 15 a 19 anni. Il picco di incidenza della patologia è tra i 2 e i 4 anni di età; i maschi presentano un rischio di sviluppare la malattia del 20% superiore rispetto alle femmine. Le cause che portano allo sviluppo di LLA non sono completamente note, ma è molto probabile che la leucemia sia il risultato dell'interazione tra cause ambientali, fattori genetici e azione di oncogeni tumorali, articolata in un processo complesso che richiede il verificarsi di più eventi.

I sintomi

Il quadro sintomatologico all'esordio della malattia è spesso aspecifico e può comparire più o meno rapidamente. I pazienti pediatrici (età < 18 anni) con LLA presentano spesso importante astenia (stanchezza) dovuta alla riduzione del tessuto emopoietico in grado di produrre emoglobina. Possono, inoltre, comparire dolori

articolari e ossei localizzati o diffusi, febbre, dovuta alla malattia stessa o ad infezioni concomitanti favorite da una riduzione dei globuli bianchi, e manifestazioni emorragiche (petecchie o ecchimosi) che si presentano spontaneamente o dopo un trauma, ma in modo più accentuato del normale e che sono dovute alla riduzione del numero delle piastrine.

Tutti i sintomi della leucemia derivano dal fatto che la malattia origina nel midollo osseo, il tessuto che produce le cellule del sangue, e consiste nella proliferazione anomala di cellule staminali ematopoietiche commissionate a differenziarsi, o già differenziate, in linfociti B e T che, divenuti blasti⁵ arrestano la funzionalità del midollo invadendolo in modo più o meno esteso. Queste cellule si diffondono poi attraverso il sangue periferico ad altri tessuti e organi, tra cui linfonodi, fegato, milza, testicoli e rene. Di rado, in meno del 5% dei bambini e/o adolescenti affetti da LLA, la malattia può coinvolgere anche il Sistema Nervoso Centrale (SNC) o altre sedi.

La diagnosi

Il primo esame normalmente effettuato nel sospetto di LLA è l'emocromo, i cui parametri sono gravemente alterati per la presenza in circolo di blasti che possono essere evidenziati con la valutazione morfologica dello striscio di sangue periferico. Nel caso in cui il sospetto di leucemia sia confermato, il bambino o adolescente viene indirizzato in uno dei 50 Centri dell'AIEOP (Associazione Italiana di Oncologia ed Ematologia Pediatrica) presenti in Italia e uniti in una rete collaborativa nazionale per la cura e la ricerca nell'ambito delle patologie oncoematologiche in pediatria. Qui si procede all'esecuzione di un agoaspirato midollare che permette di porre la diagnosi di leucemia. La puntura lombare valuta invece la presenza o meno della malattia nel liquido cefalorachidiano e quindi il coinvolgimento anche del SNC.

Il passo successivo consiste nella comunicazione della diagnosi alla famiglia: questo delicato momento consente al medico, in presenza dello psicologo e, se possibile, del pediatra di famiglia, di spiegare l'iter terapeutico. La presa in carico del paziente pediatrico e della famiglia da parte di un team multidisciplinare (composto anche da infermieri, consulenti d'organo, fisiatristi e fisioterapisti, volontari, educatori e insegnanti) rappresenta una delle caratteristiche principali dell'oncologia pediatrica.

L'iter terapeutico

I pazienti pediatrici al momento della prima diagnosi di LLA vengono trattati secondo protocolli condivisi nell'ambito dell'AIEOP che prevedono quattro fasi principali di trattamento: induzione, consolidamento, re-induzione e mantenimento. La durata complessiva della terapia è di 24 mesi e si articola in una prima fase più intensiva - in cui viene somministrata la chemioterapia della durata di 6-9 mesi - seguita da una seconda fase di terapia di mantenimento.

Il protocollo AIEOP-BFM 2009, che ha rappresentato la prima linea di trattamento per i bambini con LLA (età 1-17 anni) fino a marzo 2017, prevedeva che tutti i pazienti ricevessero una fase di induzione e di consolidamento seguite, nei pazienti a rischio standard o medio, dalle fasi di re-induzione e mantenimento; nei pazienti ad alto rischio, da blocchi sequenziali di chemioterapia intensiva, cicli di re-induzione con mantenimento ad interim ed, infine, dal mantenimento fino alla conclusione dei 2 anni di terapia.

Nel protocollo AIEOP-BFM 2009 sono stati arruolati 6.090 pazienti, che hanno riportato una sopravvivenza globale a 5 anni dalla diagnosi pari al 91,6% e una sopravvivenza libera da eventi (EFS, Event Free Survival) dell'83%. La valutazione della sopravvivenza sulla base della classe di rischio dimostra che i pazienti con LLA ad immunofenotipo B, a rischio standard e medio, hanno raggiunto una EFS rispettivamente del 91% e dell'84%. I pazienti con LLA ad immunofenotipo T, a rischio non alto e alto, hanno invece raggiunto EFS rispettivamente dell'83% e del 70,5%.

⁵ Sono cellule immature da cui si sviluppano gli elementi che costituiscono la parte corpuscolare del sangue (piastrine, globuli rossi e bianchi).

I pazienti resistenti e ricaduti

Esiste una percentuale di pazienti che, con le terapie convenzionali, non riesce a ottenere il controllo a lungo termine della malattia: il 15-20% dei bambini con LLA presenta una ricaduta di malattia dopo la terapia di prima linea, e la LLA in recidiva è per frequenza la terza neoplasia in età pediatrica. La sopravvivenza a 5 anni dei pazienti con ricaduta di malattia varia: per le LLA di tipo B, spazia dal 25% nel caso di recidive molto precoci midollari o combinate, al 60-70% per quelle extra-midollari isolate, mentre per le LLA di tipo T è solo tra il 7% e il 23%. Vi sono poi pazienti con malattia refrattaria, che non risponde cioè ai trattamenti (circa il 2-4%), in questo caso la possibilità di raggiungere una nuova remissione è del 50-70%, ma solo il 20-30% dei pazienti può essere curato.

Infine, i bambini affetti da LLA con meno di un anno (infants) o 15-19 anni (adolescenti) hanno una prognosi peggiore rispetto alle altre fasce di età e presentano una sopravvivenza a 5 anni rispettivamente del 46% e del 57%. Nei pazienti che ricadono vanno considerati una serie di fattori, dalla sede (midollare, SNC, linfonodale o combinata) e dal momento della ricaduta. Tanto più quest'ultima è vicina alla terapia, tanto più si tratta di un fattore prognostico negativo.

Le variabili che incidono sulla guarigione

Vi sono alcune variabili che impattano sulla probabilità di guarigione e sono ormai ben definite. A seconda del tipo di malattia, delle caratteristiche immunologiche della LLA, se origina cioè da cellule T o B, e da alcune caratteristiche biomolecolari, come alcune traslocazioni cromosomiche - ad esempio la t(9;22) e la t(4;11) - è possibile prevedere quale sarà il decorso della malattia. L'indicatore prognostico più importante ed indipendente però, è la "Malattia Minima Residua" (MMR) che rappresenta la "quantità" di malattia ancora rilevabile nel midollo osseo, in tempi predefiniti. Parte del sangue midollare prelevato alla diagnosi viene centralizzato presso laboratori dedicati che operano in ambito AIEOP., dove, oltre alla conferma della diagnosi, ci si occupa di creare per ogni paziente una sonda specifica che, con metodiche di citofluorimetria [che vengono eseguite in date prestabilite, in questo caso dopo 15 giorni dall'inizio della terapia (g+15)] e di biologia molecolare (g+15, g+33 e g+78), consente di riconoscere e quantificare poche cellule leucemiche tra decine di migliaia di cellule normali.

In base alle variabili già ricordate e alla quantità di Malattia Minima Residua, nel protocollo AIEOP-BFM ALL 2009 i pazienti sono stati stratificati in tre fasce di rischio: standard, medio e alto. In particolare, si parla di paziente MMR negativo (MMR-) se il paziente risulta negativo a due controlli e paziente MMR positivo (MMR+) se la malattia è ancora presente, con una stratificazione in rischio medio o alto a seconda della quantità (il "cut off" di riferimento è pari a $1/10^3$). L'introduzione della MMR ha cambiato la tradizionale definizione di remissione completa di malattia e rappresenta oggi un approccio terapeutico "personalizzato" che permette di modulare l'intensità della terapia e ridurre, laddove possibile, il rischio di mortalità, morbidità e di effetti a lungo termine legati al trattamento.

Nuove prospettive

Oggi la tradizionale chemioterapia è affiancata da nuovi strumenti di immunoterapia, come gli anticorpi monoclonali anti-CD19 e anti-CD22 e le terapie CAR-T. Soprattutto per i pazienti con malattia in ricaduta o refrattaria in cui la chemioterapia può aver raggiunto dosaggi cumulativi che non si possono superare, i livelli di tossicità diventano tali da non essere più tollerati, per cui a un certo punto è necessario cambiare strategia terapeutica.

Gli anticorpi monoclonali sono usati anche in prima linea per consolidare la LLA ad alto rischio e mandare il paziente in remissione completa (intesa come MMR-), per poi inviare i pazienti a trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HSCT). L'HSCT (o TCSE) rappresenta ancora la "stella polare" nel trattamento delle forme refrattarie e ricadute, ma dà ottimi risultati se il paziente vi arriva in remissione completa. Da qui l'idea di inserire

l'immunoterapia - comprese le cellule CAR-T - come ponte verso il trapianto, per raggiungere la remissione completa e ottenere migliori risultati in termini di sopravvivenza, con possibilità di ricaduta bassissima (< 20% rispetto al 50-70% dei pazienti MMR+ avviati a trapianto). La vera questione oggi è capire quali strategie terapeutiche usare per raggiungere la remissione completa e quando e come collocare le immunoterapie a disposizione.

La terapia CAR-T

In questo contesto, le terapie CAR-T hanno un ruolo cruciale. Nel 2018, lo studio clinico ELIANA ha rappresentato un cambiamento importante nella prospettiva di cura dei pazienti, in quanto ha dimostrato la possibilità di ottenere lo stato di remissione della leucemia in pazienti pediatrici e giovani adulti prima considerati inguaribili. Oggi è disponibile - approvata sia negli Stati Uniti che in Europa, compresa l'Italia - una terapia CAR-T anti CD-19, sviluppata dall'industria farmaceutica per pazienti pediatrici e giovani adulti con LLA a cellule B che non hanno risposto o che hanno presentato almeno due recidive dopo il trattamento iniziale.

Bibliografia

- Corradini P., Foà R. Manuale di ematologia. Minerva Medica, IIIa Edizione, 2020
- Maude S.L. Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. The New England Journal of Medicine, 2018. 378;5: 439-448

Capitolo 5



I LINFOMI

Paolo Corradini

Linfoma diffuso a grandi cellule B e linfoma primitivo del mediastino a cellule B: epidemiologia e descrizione

Sotto l'ampio cappello dei linfomi si riscontrano varie forme diverse fra loro. La prima distinzione che viene fatta, in termini di classificazione, è quella tra il linfoma di Hodgkin e i linfomi non-Hodgkin. Il primo prende il nome del medico che lo ha descritto agli inizi dell'Ottocento, Thomas Hodgkin, e si manifesta in genere nell'adulto tra i 20 e 50 anni, mentre è raro nei bambini e negli anziani. Nel secondo gruppo rientrano diversi sottotipi di neoplasie maligne, che derivano dai linfociti B, T o dalle cellule Natural Killer (NK). Complessivamente i linfomi non-Hodgkin rappresentano il 4-5% dei nuovi casi di tumore al mondo, con un trend di nuovi casi in aumento negli ultimi decenni. Questo tipo di tumore riguarda più comunemente gli uomini, con un'età mediana di insorgenza tra i 50 e 70 anni, e un incremento di incidenza con l'aumentare dell'età. È più frequente nella popolazione americana di razza caucasica, seguita da quella europea, australiana e infine asiatica, con una maggior prevalenza nelle aree urbane rispetto a quelle rurali. Le cause che portano all'insorgenza dei linfomi non-Hodgkin non sono ancora note, anche se sono state fatte alcune ipotesi riguardo a diversi fattori in grado di alterare il sistema immunitario, che sembra possano essere correlati allo sviluppo.

Come già ricordato, a seconda delle cellule del sistema immunitario da cui derivano, i linfomi non-Hodgkin si suddividono in diversi sottotipi. Nell'85% dei casi originano dai linfociti B e nel restante 15% da linfociti T o da cellule NK. A seconda della sottopopolazione linfocitaria e dello stadio di maturazione in cui si trovano al momento dell'insorgenza del linfoma, si avranno differenti tipi di linfoma. Secondo l'ultima classificazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) del 2008, le neoplasie linfoidi possono essere classificate in cinque ampie categorie:

- neoplasie dei precursori dei linfociti B;
- neoplasie delle cellule B mature;
- neoplasie derivanti dai precursori delle cellule T;
- neoplasie derivanti dai linfociti T periferici o dalle cellule NK;
- linfoma di Hodgkin.

Tra le neoplasie delle cellule B mature, rientra anche il linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL, Diffuse Large B-cell Lymphoma), il sottotipo aggressivo più comune nei Paesi occidentali, che rappresenta il 20% di tutti i linfomi e il 60-70% dei linfomi più aggressivi. In Italia ha un'incidenza standardizzata per età pari a 4,8 casi per 100.000 persone all'anno (dati dell'Associazione Italiana Registri Tumori - AIRTUM). Insorge in genere intorno ai 60 anni, con una lieve prevalenza nel sesso maschile. Vi è anche un raro sottotipo di DLBCL, il linfoma a cellule B primitivo del mediastino (PMBCL, Primary Mediastinal B-Cell Lymphoma), tipico delle giovani donne, con una mediana di età di circa 40 anni. L'esordio può essere asintomatico o accompagnato dai sintomi sistemici detti "sintomi B": come febbre superiore ai 38°C, sudorazioni notturne ricorrenti, perdita di peso superiore al 10% in meno di sei mesi. Nelle prime fasi interessa per lo più gli organi linfatici, con un ingrossamento dei linfonodi del collo, ascelle e inguine, ma può riguardare anche sedi extra-linfatiche, soprattutto lo stomaco o l'intestino. Nel caso di linfomi aggressivi come il DLBCL, la crescita delle masse linfonodali è rapida e in generale, può interessare tutti gli organi.

Una buona parte delle persone affette da linfomi può essere curata definitivamente con chemio e radioterapia, essendo i linfomi sensibili a questi trattamenti. Negli stadi iniziali la terapia si basa su cicli abbreviati di chemioterapia (in genere poli-chemioterapia) seguita da radioterapia nelle zone interessate. Negli stadi avanzati invece, i linfomi aggressivi devono essere sottoposti rapidamente a chemio-immunoterapia, data la rapida proliferazione tumorale. La terapia di prima linea per i linfomi non-Hodgkin in stadi avanzato B, tra cui DLBCL e PMBCL, prevede la somministrazione della chemioterapia CHOP (Ciclofosfamide, Adriamicina, Vincristina, Prednisone), a cui si associa l'anticorpo monoclonale anti-CD20 rituximab. La chemio-immunoterapia R-CHOP, cioè l'associazione tra la polichemioterapia e l'anticorpo monoclonale anti-CD20, è la prima linea di trattamento per tutti i linfomi non-Hodgkin a grandi cellule B. Nei pazienti con DLBCL è ben tollerata e porta a una remissione completa per l'80-85% dei pazienti e a guarigione per il 60-70%. La risposta alla terapia è maggiore nei pazienti con migliori indici prognostici alla diagnosi. Essendo un linfoma aggressivo risponde rapidamente al trattamento, ma altrettanto rapidamente può andare incontro a recidiva. In genere il paziente "ricade" entro 2 anni dal trattamento e più raramente entro i 5 anni. Oltre questo arco di tempo, il paziente ha una probabilità molto elevata di essere guarito. Per il PMBCL la prognosi è favorevole con circa l'85% dei pazienti che ottiene la guarigione dopo chemio-immunoterapia ed eventuale radioterapia mediastinica.

I pazienti che non rispondono alla prima linea di trattamento R-CHOP, ricadono in un arco di tempo compreso tra 1 e 3 anni, a seconda dei fattori prognostici, come età e condizioni di salute generale del paziente. Possono essere trattati con numerosi altri cicli di chemioterapia di salvataggio, contenenti farmaci differenti rispetto allo schema CHOP. In caso di ulteriori ricadute, si passa alla seconda linea di trattamento distinta a seconda dell'età. Sotto i 65-70 anni, si procede con una chemioterapia ad alte dosi seguita da infusioni di cellule staminali autologhe, quando possibile. Strategia che può portare a guarigione nel 50% dei casi. Nei pazienti più anziani si utilizza invece uno schema di chemioterapia associata a rituximab con schemi diversi dalla CHOP. Nel caso in cui neanche la seconda linea di trattamento abbia successo, le opzioni a disposizione sono limitate. Si può, per esempio, ricorrere a una terza combinazione di chemioterapia, oppure pensare a un trapianto di cellule staminali allogeniche, da donatore familiare o no, HLA compatibile. In seguito al trapianto si ottengono percentuali di sopravvivenza a 5 anni variabili: tra il 30 e il 50% a seconda del sottotipo istologico e dello stato della malattia. In generale, però, il trapianto autologo o allogenico in pazienti con malattia refrattaria non ha possibilità di successo. Inoltre, il trapianto allogenico è praticabile solo nel 10-20% dei pazienti, principalmente a causa della malattia chemio-refrattaria, della età o delle comorbidità. Nelle persone più anziane e non candidabili al trapianto, o in chi è andato incontro a recidiva dopo trapianto, è possibile utilizzare la lenalidomide, che ha riportato una risposta del 30% nei pazienti pluritrattati.

Terapie CAR-T

Un'altra alternativa, disponibile in Italia dal 2019, per i pazienti con DLBCL e PMBCL ricaduti o refrattari alle due linee di trattamento o dopo trapianto autologo, è la terapia a base di cellule CAR-T. Come già anticipato nei capitoli precedenti, le prime due terapie CAR-T anti-CD19 (cioè in grado di neutralizzare le cellule B che

esprimono sulla loro superficie la proteina CD19, tra cui quelle che causano il linfoma), axicabtagene ciloleucel (axi-cel) e tisagenlecleucel (tisa-cel), sono state approvate per l'uso clinico commerciale per la prima volta nel 2017 dalla Food and Drug Administration (FDA) statunitense e, successivamente, nel 2018 dalla Commissione europea. I dati che hanno portato all'approvazione delle due CAR-T derivano da due studi clinici di Fase II, ZUMA-1 e JULIET, che hanno dimostrato la remissione completa della malattia nella popolazione di pazienti affetti da DLBCL e PMBCL, nel primo, e solo da DLBCL, nel secondo.

Linfoma mantellare classico: epidemiologia e descrizione

Tra i linfomi a cellule B aggressivi rientra anche il linfoma mantellare (MCL, Mantle Cell Lymphoma), forma che origina dalle cellule della zona mantellare del linfonodo. Rappresenta il 6-7% dei linfomi non Hodgkin, con un'età media di insorgenza tra i 50 e 60 anni e una maggior prevalenza tra gli uomini. Anch'esso, come gli altri tumori delle cellule B, presenta antigeni di superficie CD19 e CD20 e anche CD5. Negli Stati Uniti il MCL ha un'incidenza annuale di circa uno o due casi ogni 100.000 persone, prevalentemente caucasici. Particolarità del MCL è la traslocazione cromosomica t(11; 14) (q13; q32), presente nelle maggior parte dei pazienti (60-70% dei casi), che può essere utilizzata come marcatore molecolare per lo studio della malattia minima residua.

A livello clinico il MCL si manifesta con ingrossamenti dei linfonodi (linfadenopatie) disseminati, anche di grandi dimensioni e con un'aggressività clinica intermedia tra il linfoma follicolare e il DLBCL. Frequentemente è localizzato a livello midollare e gastro-enterico (particolarità di questo linfoma), è comune anche la splenomegalia (aumento di volume della milza) massiva e la leucemizzazione nel 20-40% dei casi. Per la maggior parte dei pazienti la prognosi è generalmente sfavorevole, con una sopravvivenza mediana di 3-4 anni circa.

Terapia

La terapia consiste anche in questo caso nella chemioterapia in combinazione con un anticorpo monoclonale anti-CD20, in caso di ricaduta vengono anche utilizzati gli inibitori della tirosin-chinasi del Bruton (BTK). Lo schema di trattamento R-CHOP per il MCL non ha mostrato gli stessi risultati favorevoli riscontrati per il linfoma a grandi cellule B, con percentuali di risposta pari al 50% di breve durata. Sebbene quindi, quasi tutti i pazienti rispondano almeno parzialmente alla terapia di prima linea, la ricaduta si verifica regolarmente. La prognosi peggiora progressivamente con ogni ricaduta e la maggior parte dei pazienti alla fine muore a causa della progressione della malattia. Nei pazienti con età inferiori ai 65 anni vi sono buoni risultati con l'utilizzo del trapianto autologo in prima linea. Le terapie successive variano a seconda dell'età, della forma fisica e delle comorbidità del paziente, nonché della discrezione del medico e delle preferenze del paziente e finora non c'è un consenso o indicazioni chiare sull'approccio ottimale.

È consigliato includere i pazienti affetti da MCL in protocolli clinici di chemioterapia ad alte dosi associata al rituximab, che finora si è dimostrata l'unica terapia in grado di eradicare il tumore e indurre una remissione completa duratura in circa il 60% dei pazienti. Bendamustina più rituximab o Bendamustina/Ara C e rituximab sono il trattamento più comunemente utilizzato nella malattia recidivante o refrattaria e hanno dimostrato tassi di risposta obiettiva che vanno dal 65% al 92%. Un'altra strategia che consente una remissione duratura nella malattia ricaduta è il trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HSCT) allogeniche, indicata però in una minoranza di pazienti con malattia chemiosensibile. Tuttavia, l'HSCT allogenico, in particolare, presenta un alto rischio di mortalità correlata al trattamento.

Terapia CAR-T

Il 24 luglio 2020 la Food and Drug Administration (FDA) statunitense ha approvato brexucabtagene autoleucel (nome commerciale Tecartus), terapia a base di cellule CAR-T sviluppata da Kite Pharma, indicata per le forme

recidivanti o refrattarie di MCL. Brexucabtagene autoleucel è costituito da un CAR specifico per il CD19 e utilizza il vettore virale gammaretrovirus. L'approvazione negli Stati Uniti si basa sui risultati dello studio clinico di fase II, ZUMA-2 condotto su 74 pazienti adulti affetti da MCL recidivante o refrattaria alla chemioterapia con antraciclina o bendamustina e al trattamento con anticorpi anti-CD20 e inibitori della tirosin-chinasi del BTK (ibrutinib or acalabrutinib).

Bibliografia

- Corradini P., Pennisi M. Risultati clinici attuali e prospettive future delle cellule CAR T nei pazienti con linfoma. [Capitolo per educazionale CART] SIE – Società Italiana di Ematologia, 2019
- Corradini P. Le chimeric antigen receptor (CAR) T-cells nella leucemia e nei linfomi. [Capitolo per educazionale CART] SIE – Società Italiana di Ematologia, 2019
- Corradini P., Foà R. Manuale di ematologia. Minerva Medica, IIIa Edizione, 2020
- Associazione Italiana Registri Tumori (AIRTUM)
- Locke F. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1-2 trial. *The Lancet Oncology*, 2018. 20(1): 31-42
- Schuster S.J. et al. Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *The New England Journal of Medicine*, 2019. 380(1): 45-56
- FDA – Food and Drug Administration.; July 23, 2020. Summary Basis for Regulatory Action -- TECARTUS/ brexucabtagene autoleucel. Disponibile a: <https://www.fda.gov/media/141093/download>
- FDA – Food and Drug Administration. Documento FDA: TECARTUS Prescribing Information - TECARTUS. Disponibile a: <https://www.fda.gov/media/140409/download>
- Gilead Sciences, Inc. Jul 24, 2020: U.S. FDA Approves Kite's Tecartus™, the First and Only CAR T Treatment for Relapsed or Refractory Mantle Cell Lymphoma. Disponibile a: <https://www.gilead.com/news-and-press/press-room/press-releases/2020/7/us-fda-approves-kites-tecartus-the-first-and-only-car-t-treatment-for-relapsed-or-refractory-mantle-cell-lymphoma>

Capitolo 6



LA REGOLAMENTAZIONE DELLE CAR-T

Giulio Pompilio

Terapie avanzate e CAR-T: farmaci regolamentati dall'Agenzia Europea dei Medicinali

Le terapie avanzate rappresentano la più grande sfida biotecnologica della medicina contemporanea in malattie per le quali ad oggi non esiste una cura. Esse incarnano un nuovo modo di affrontare il percorso terapeutico e sono il paradigma di una medicina capace di integrare nella pratica clinica, con sempre maggior efficienza, innovazioni e scoperte frutto del continuo processo della ricerca accademica ed industriale. In quanto tali, le terapie avanzate - e quindi anche le CAR-T, che sono incluse in questa categoria - sono considerate veri e propri farmaci e, come tali, sono inquadrate all'interno della regolamentazione europea. Nell'insieme delle ATMP ricadono svariate tipologie di prodotto che sono raggruppati in quattro aree: terapia genica, terapia cellulare, ingegneria tissutale o la combinazione di queste tre aree. Lo sviluppo di ognuno dei prodotti biologici che ricadono all'interno di tali ampie aree terapeutiche richiede un elevato livello di specializzazione biotecnologica e un consolidato bagaglio scientifico e produttivo. Pertanto, considerata l'importanza che gli ATMP vanno assumendo all'interno della farmacopea, necessitano di un percorso regolatorio subordinato a particolari e specifiche regole.

Negli ultimi vent'anni quest'area di sviluppo farmacologico è andata incontro ad una massiccia espansione, ulteriormente accelerata dal recente avvento delle terapie a base di cellule CAR-T, che sono prodotti di terapia genica concepiti per la cura dei tumori. Entrambe le terapie oggi presenti in commercio in Europa sono state approvate per indicazioni simili (al momento, la terapia del linfoma a grandi cellule B recidivante e della leucemia linfoblastica acuta refrattaria) e offrono un'incredibile opportunità di curare in maniera efficace, o allungare la sopravvivenza o il tempo in assenza di malattia, i pazienti che vedevano esaurite le opportunità terapeutiche a disposizione con una conseguente proiezione negativa sul loro futuro. Oltre che innovative, esse sono dunque un beneficio concreto per la collettività e per la salute dei cittadini di oggi e di domani. Per tale ragione l'Agenzia Europea dei Medicinali (EMA) crede fermamente nell'importanza di regolare in maniera stringente queste terapie e ha esteso la designazione di ATMP a prodotti di sempre maggiore sofisticazione che stanno entrando nel mercato o si trovano ancora nelle fasi di sperimentazione pre-clinica e clinica.

L'universo delle ATMP, seppur complesso e diversificato, è definito dalla legge contenuta nel Regolamento n° 1394/2007 promulgato dal Parlamento Europeo e da una serie di regolamenti e linee guida, rifiniti fino ad

oggi, che definiscono il processo di approvazione delle terapie avanzate - e quindi anche delle terapie CAR-T - come il medesimo che regola l'ingresso di un qualsiasi altro farmaco sul mercato europeo. L'approvazione viene concessa dalla Commissione europea la quale garantisce una "Marketing Authorization" (MA), cioè un'autorizzazione al commercio unica e valida su tutto il territorio dell'Unione Europea. Tale approvazione, per quanto riguarda le terapie come quelle a base di cellule CAR-T, viene veicolata dall'EMA alla Commissione al termine di un lungo processo di valutazione, finalizzato a garantire la salute pubblica dei cittadini verso cui tali terapie sono rivolte. Tale processo di verifica è svolto da due organismi interni all'EMA, il primo dei quali è rappresentato dal "Committee for Advanced Therapies" (CAT) - ovvero il Comitato per le Terapie Avanzate - che costituisce uno dei Comitati permanenti dell'EMA, formato da esperti provenienti da tutti gli Stati membri e dedicato esclusivamente agli ATMP. Il secondo è il "Committee for Medicinal Products for Human Use" (CHMP) - Comitato dei Prodotti Medicinali per Uso Umano - destinazione finale di ogni prodotto farmaceutico autorizzato dall'EMA. Il CHMP può essere considerato l'ultimo passaggio valutativo al termine del quale giunge il parere definitivo dell'EMA sull'idoneità di un prodotto medicinale, da trasmettere poi alla Commissione europea per il rilascio della Marketing Authorization.

Il Comitato per le Terapie Avanzate e il processo di valutazione e approvazione

Il Comitato per le Terapie Avanzate (CAT, Committee for Advanced Therapies), operativo dal 2001, è l'organo responsabile della valutazione della qualità, della sicurezza e dell'efficacia delle ATMP e, tra i suoi ruoli, vi è quello di stilare un dossier comprensivo di tutto il percorso regolatorio di un prodotto di terapia avanzata, dalla parte pre-clinica, sino a quella della sperimentazione clinica e ai processi manifatturieri. Inoltre, il CAT può elaborare pareri e fornire raccomandazioni su qualsiasi questione regolatoria relativa alle terapie avanzate. Per svolgere queste funzioni, il CAT si avvale di esperti di diversa natura ed estrazione in grado di coprire tutta l'area vasta di sviluppo degli ATMP ed è composto per tutti gli Stati membri dell'Unione Europea da due rappresentanti, un delegato e un alternate, affiancati da altri esperti e da rappresentanti di associazioni di pazienti.

In particolare, il processo di autorizzazione di un ATMP all'interno dell'EMA è centralizzato e si svolge con una procedura standard che copre idealmente un arco temporale di 210 giorni, durante i quali il CAT si occupa di analizzare e gestire la parte regolatoria dell'intero processo di sviluppo e validazione clinica del prodotto. Alla conclusione di questo iter, l'opinione finale emessa dal CAT sul prodotto in questione può o meno essere adottata dal CHMP, che ha il compito di rilasciare il parere alla Commissione europea per la MA. La funzione centrale svolta dal CAT, per quanto concerne i più rilevanti processi di autorizzazione dei prodotti di terapia avanzata, si riassume, sostanzialmente, in tre grandi passaggi: classificazione, valutazione e decisione per la commercializzazione. Il punto di partenza del percorso regolatorio che gli ATMP affrontano all'interno dell'EMA - e quindi del CAT - è quello della classificazione. Si tratta di un passaggio breve ma cruciale, col quale si decide se il prodotto in questione possa essere etichettato come ATMP. Nel caso tale designazione dovesse essere negata il prodotto automaticamente esce dal percorso regolatorio per le terapie avanzate. Se, invece, l'affiliazione ATMP è riconosciuta, il prodotto entra nel lungo percorso a tappe che è quello della valutazione. Durante questo percorso le aziende possono richiedere ad EMA diversi "Scientific Advice", coprendo tutto il periodo di validazione del prodotto, dalla parte pre-clinica e di studio su modelli animali per determinare l'efficacia, la dose di farmaco in grado di determinare l'effetto desiderato e la sicurezza del prodotto, fino alla parte manifatturiera, la qualità del materiale di partenza (che può essere tanto un gene quanto una cellula), per concludere con le fasi di produzione. Il nodo centrale di questo cammino è la fase clinica di validazione sul paziente, che comprende i trial clinici - da quelli di Fase I a quelli di Fase III - e culmina con la sottomissione al CAT di una MAA, cioè di una "Marketing Authorization Application". In quel preciso momento, quando l'azienda termina il percorso di interazione con l'EMA e decide di sottoporre al CAT una MAA, scatta l'orologio che fa sì che dopo un tempo definito venga rilasciata da parte del CAT stesso - e poi da parte dell'EMA - una valutazione sulla possibilità o meno del prodotto di sbarcare sul mercato europeo.

Naturalmente, il CAT svolge anche altre funzioni di supporto che comprendono la diffusione di raccomandazioni scientifiche relative alla classificazione degli ATMP, la fornitura di consulenze sullo svolgimento dei follow-up di

efficacia, su studi di farmacovigilanza o sui sistemi di gestione del rischio per gli ATMP, il supporto al Comitato Pediatrico (Pediatric Committee, PDCO) o dei Farmaci Orfani (Committee for Orphan Medicinal Products, COMP) dell'EMA, e la consulenza scientifica in merito a qualsiasi iniziativa comunitaria collegata allo sviluppo di farmaci e terapie innovative che richiedano competenze specifiche sugli ATMP. Inoltre, il CAT si occupa del mantenimento dei rapporti con gli stakeholder dell'EMA allo scopo di rafforzare il dialogo con le industrie e le biotech coinvolte nella produzione delle terapie avanzate, nonché dei rapporti con le altre grandi agenzie regolatorie internazionali, prima fra tutte la Food and Drug Administration statunitense. Infine, il CAT ha il compito di sovrintendere la produzione di Linee Guida, documenti di orientamento ed elenchi di procedure e requisiti validi nella regolazione di tutti gli aspetti di sviluppo e validazione di questi speciali farmaci.

Sotto la sfera di competenza del CAT ricadono dunque prodotti di terapia genica, di terapia cellulare somatica e prodotti di ingegneria tissutale, o la combinazione di questi, i quattro grossi domini nei quali vengono suddivise le terapie avanzate una volta ottenuta la classificazione di ATMP. In particolare, le cellule CAR-T rientrano nella sezione di terapia genica e, nella sottospecie, dei prodotti ottenuti da cellule modificate geneticamente. Infatti, a ben guardare, le CAR-T sono cellule del sistema immunitario ingegnerizzate in maniera mirata per esprimere un determinato epitopo di superficie che ha il compito di riconoscere un antigene cellulare sulla cellula bersaglio. Al momento sono due le terapie a base di cellule CAR-T approvate e immesse sul mercato europeo: tisagenlecleucel (Kymriah) e axicabtagene ciloleucel (Yescarta). Per avere un'idea delle enormi difficoltà che possono presentarsi durante tutto il percorso regolatorio al quale va incontro un prodotto sviluppato da un'azienda biotecnologica prima di raggiungere il mercato europeo è sufficiente guardare i numeri: in questo momento sono 15 gli ATMP - ma i primi approvati sono anche già stati ritirati per motivi legati al costo del prodotto - giudicati suscettibili di ricevere una MAA ed arrivare ai pazienti. Otto sono, infatti, i prodotti di terapia genica, quattro quelli di terapia cellulare somatica e tre quelli di ingegneria tissutale approvati in Europa. Tra la prima richiesta di un'opinione scientifica in merito a un prodotto e l'effettivo raggiungimento della MAA possono trascorrere anche anni. Solamente meno del 5% dei prodotti inizialmente sviluppati trovano uno sbocco sul mercato. È una montagna che ai produttori, alle aziende e alle case farmaceutiche non soltanto impone una scalata dal versante dello sviluppo manifatturiero, pre-clinico e clinico ma richiede anche il superamento di ardui passi sul piano della qualità del prodotto.

Dal punto di vista del CAT, tale processo viene suddiviso in diversi stadi, cosicché la valutazione finale diventi la somma dei più pareri espressi su vari aspetti del percorso, da quello della qualità del prodotto, a quello pre-clinico e produttivo, per finire agli aspetti di natura clinica. Ognuno di questi stadi è sottoposto al vaglio di valutatori in seno al CAT provenienti da vari Paesi in un processo che, attraverso i loro esperti, coinvolge tutti gli Stati membri ed è quindi condiviso all'interno della Commissione europea. Nello specifico, il meccanismo operativo del CAT prevede che a farsi carico della composizione e valutazione complessiva del dossier sul prodotto in esame sia un comitato di esperti di un Paese membro del Comitato (è il cosiddetto "rapporteur"), affiancato dagli esperti di un secondo Paese membro (detto "co-rapporteur"). Al termine del loro lavoro, il dossier da essi prodotto può essere sottoposto al CAT per la valutazione finale.

Dall'approvazione centralizzata ai Paesi membri dell'Unione Europea

Una volta che un prodotto medicinale di terapia avanzata ha ottenuto lo status di commerciabilità all'interno dei confini dell'Unione Europea (UE), il problema di un suo inserimento nei Sistemi Sanitari dei singoli Stati poggia completamente su base locale. Infatti, la contrattazione del prezzo tra l'azienda e i vari Paesi dell'UE viene impostata ed avviata con le agenzie regolatorie dei singoli Stati membri. Tutto ciò trova spiegazione nell'adozione di una politica precisa dell'Europa, consistente nel lasciare la quantificazione del valore della terapia ad ognuno dei Paesi, con la logica conseguenza che il procedimento per stabilire la rimborsabilità e per attribuire un prezzo relativo al farmaco manca di omogeneità ed è, invece, modulato dalla rapidità con cui ogni Stato decide di adottare l'ATMP e inserirlo nel suo prontuario farmaceutico.

In quest'ottica l'equazione necessaria per la valutazione del reale valore clinico ed economico di una terapia innovativa deve tener conto di diversi fattori, tra i quali il rapporto rischio/beneficio della somministrazione

singola con la quale terapie come le CAR-T sono somministrate, il risparmio conseguente di farmaci e visite ospedaliere, nonché dei costi di ospedalizzazione ed erogazione di servizi al paziente che, altrimenti, dovrebbe continuare il suo percorso terapeutico a spese del Servizio Sanitario Nazionale. Nonostante la logica di valutazione di efficacia e sicurezza nonché di commerciabilità (la MAA è valida in tutta Europa) faccia capo ad un organismo europeo sovranazionale, quella di definizione del costo della terapia e della sua rimborsabilità da parte del SSN rimane quindi in carico ai singoli governi nazionali, che si regolano sulla base del valore aggiuntivo di una terapia e della disponibilità di risorse pubbliche per l'assistenza farmaceutica.

Le terapie a base di cellule CAR-T sono state approvate dapprima dal Regno Unito - quando ancora era parte integrante dell'Unione Europea - poi dalla Germania, dalla Francia e, infine, dall'Italia.

L'approvazione in Italia da parte dell'AIFA

In Italia, le CAR-T sono state approvate sulla base di una lunga contrattazione avvenuta con le aziende titolari, rispettivamente Gilead e Novartis, che ha portato a stabilire un prezzo e una politica di rimborso da parte del nostro Paese nei confronti delle ditte titolari e, quindi, a una successiva approvazione da parte dell'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA). Infatti, una volta che i vertici dell'AIFA ricevono dalla Commissione europea l'autorizzazione al commercio di una terapia avanzata, si entra nella fase con cui si stabilisce il prezzo, la quale è demandata all'Agenzia Regolatoria locale, che per il nostro Paese è appunto l'AIFA. La contrattazione con l'azienda serve a definire la rimborsabilità dell'ATMP da parte del sistema sanitario e questo delicato iter procedurale trova conclusione presso il Consiglio di Amministrazione (CdA) dell'AIFA che sigla la negoziazione locale del prezzo definendo così l'accordo raggiunto con l'azienda.

In particolare, lo sbarco sul mercato degli ATMP ha richiesto una logica di rimborso completamente nuova dettata principalmente dai costi estremamente elevati di queste terapie. Ogni Paese ha risposto agli alti costi delle ATMP proponendo modelli di rimborso mai usati in precedenza, come il "payment at results", cioè il pagamento ai risultati. Un modello che AIFA ha usato per la prima volta proprio per l'introduzione delle CAR-T nel Servizio Sanitario italiano. Questo sistema permette di soppesare le incertezze degli effetti della terapia e incorporarli nel sistema di una contrattualistica di accesso ad esse commisurata. Questo modello è il risultato di un corposo lavoro di programmazione sanitaria che ha condotto alla definizione delle modalità di rimborso sulla base di specifici "endpoint" dettati dall'efficacia del farmaco stesso; visti i buoni risultati ottenuti, il modello è stato implementato in molti Paesi dell'Unione Europea. In Italia, un tale nuovo modello di rimborso ha coinvolto ogni istituzione interessata all'introduzione di nuovi farmaci nel Sistema Sanitario Nazionale, essendo stato adottato dall'AIFA insieme alle sue Commissioni, in accordo con le Regioni, il Centro Nazionale Trapianti, il Consiglio Superiore di Sanità e il Ministero della Salute.

L'introduzione delle prime terapie CAR-T in Italia è un passaggio storico dal momento che ha permesso l'ingresso di una categoria di farmaci rivoluzionari, che sarà maggiormente implementata in un futuro neppure troppo lontano e coprirà non solo le indicazioni terapeutiche attuali (specifici tumori del sangue) ma, più estesamente, anche i tumori solidi. Tuttavia, oltre a una pietra miliare per medici e pazienti, tale proposta ha sancito un cambiamento di passo per quel che riguarda la negoziazione di farmaci, fornendo la base per lo sviluppo di nuovi modelli di pagamento i quali, un po' come sta accadendo per il mercato dell'automobile o dell'alta tecnologia, permetteranno l'arrivo sul mercato di un numero sempre crescente di prodotti di altissimo valore terapeutico.

La sostenibilità delle CAR-T

Come avviene per le malattie rare e per quelle ultra-rare, spesso le terapie sono molto costose ma circoscritte a un ristretto gruppo di persone con un conseguente impatto limitato sul budget del Servizio Sanitario Nazionale. Al contrario, l'estensione delle indicazioni terapeutiche e l'aumento costante delle malattie coperte dalle nuove terapie può costituire un problema non solo economico ma anche di sostenibilità per le ATMP. In Italia (ma anche in altri Paesi) sono allo studio tanti modi per coprire il fabbisogno di queste terapie che, specialmente nel

caso delle CAR-T che sono vere e proprie terapie personalizzate, possono essere prodotte solamente all'interno di officine specializzate, nell'ambito di un complesso processo produttivo che, in ogni sua parte, risponda ai dettami delle GMP, o Norme di Buona Fabbricazione. Perciò, se l'aumento delle richieste ha come conseguenza diretta un allargamento del mercato delle CAR-T, quello che si affaccia all'orizzonte è un serio problema produttivo, proprio perché la manipolazione cellulare richiede uno sforzo che ad oggi appare non praticabile.

Una delle proposte avanzate per ovviare a questo problema è stata, nel nostro Paese, quella di un finanziamento governativo per convertire le officine di produzione italiane, che sono per lo più ospedaliere, in centri manifatturieri destinati alla produzione delle CAR-T, affinché ciò possa tradursi in una maggiore sostenibilità per il SSN. La classificazione europea inquadra queste terapie come ATMP e non come "prodotti da trapianto" e ciò significa che, fino al momento in cui porteranno l'etichetta di una terapia genica che si attua attraverso la manipolazione di cellule, non sarà possibile uscire dal solco della legislazione europea. L'ostacolo principale a questa proposta è quindi rappresentato dal fatto che il processo regolatorio che sovrintende l'autorizzazione alla produzione e alla commercializzazione delle CAR-T è normato a livello europeo. Ogni ATMP prodotto, al di fuori di quelli usati per le sperimentazioni cliniche, deve essere sottoposto alla filiera regolatoria dell'EMA per ottenere la MAA e, successivamente, tornare nel Paese di produzione per ottenere la rimborsabilità.

Pur essendo corretta l'esigenza alla base di questo tipo di pressione, perché affonda le sue radici nel cercare di preservare la sostenibilità del sistema, è necessario tuttavia che le soluzioni siano compatibili con le regole attualmente vigenti in Europa. Nel contesto delle Leggi Europee, i finanziamenti pubblici per lo sviluppo di prodotti di ricerca italiani, utili sia in fase di ricerca pre-clinica che clinica, sono fondamentali. Una prima strada percorribile per favorire una riduzione dei costi delle ATMP è quella che consiste nell'abbattimento dei costi derivata della concorrenza tra i produttori: infatti, la collaborazione tra le piccole aziende produttrici e le grandi multinazionali potrebbe rivelarsi un modello vincente che, ci si augura, sia in grado di portare all'immissione sul mercato di nuovi prodotti e ad una rinegoziazione dei prezzi delle terapie.

CAR-T APPROVATE					
NOME COMMERCIALE	NOME TECNICO	INDICAZIONI TERAPEUTICHE	APPROVAZIONE FDA	APPROVAZIONE CE	APPROVAZIONE AIFA
Kymriah	tisagenlecleucel (tisa-cel)	Trattamento di pazienti pediatrici e giovani adulti fino a 25 anni di età con leucemia linfoblastica acuta (LLA) a cellule B, refrattaria, in recidiva post-trapianto o in seconda o ulteriore recidiva. Trattamento di pazienti adulti con linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL) in recidiva o refrattario dopo due o più linee di terapia sistemica.	Agosto 2017	Agosto 2018	Agosto 2019
Yescarta	axicabtagene ciloleucel (axi-cel)	Trattamento di pazienti adulti con linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL) e linfoma primitivo del mediastino a grandi cellule B (PMBCL) refrattari o recidivanti, dopo due o più linee di terapia sistemica.	Ottobre 2017	Agosto 2018	Novembre 2019
Tecartus	Brexucabtagene autoleucel	Trattamento di pazienti con linfoma mantellare (ML) in recidiva o refrattario alla terapia standard	Luglio 2020	X	X

Tab. I: Le terapie CAR-T attualmente approvate negli Stati Uniti, Europa e Italia

Bibliografia

- EMA - European Medicines Agency. Committee for Advanced Therapies (CAT). Disponibile a: <https://www.ema.europa.eu/en/committees/committee-advanced-therapies-cat>
- EMA - European Medicines Agency. Committee for Products for Human Use (CHMP). Disponibile a: <https://www.ema.europa.eu/en/committees/committee-medical-products-human-use-chmp>
- Regulation (EC) No 1394/2007 of the European Parliament and of the Council of 13 November 2007 on advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004. Off J EU. 2007; L324:121. Disponibile a: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2007/1394/oj>
- Determina n° 1264/2019 del 7 agosto 2019. Regime di rimborsabilità e prezzo del medicinale per uso umano "Kymriah". (19A05147) (Gazz. Uff. Serie Generale n° 188 del 12-08-2019). Disponibile a: <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2019/08/12/19A05147/SG>
- Determina n° 1643/2019 del 4 novembre 2019. Regime di rimborsabilità e prezzo del medicinale per uso umano "Yescarta". (19A06932) (Gazz. Uff. Serie Generale n° 264 del 11-11-2019). Disponibile a: https://www.gazzettaufficiale.it/atto/stampa/serie_generale/originario

Capitolo 7



IL PROCESSO DI PRODUZIONE DELLE CAR-T

Maria Luisa Nolli

La rivoluzione delle CAR-T

L'arrivo delle terapie avanzate, e in particolare delle terapie CAR-T, ha portato con sé una rivoluzione che ha cambiato la tradizionale concezione di "farmaco". Siamo di fronte, infatti, non solo a una rivoluzione scientifica, ma anche a una rivoluzione di prodotto, produzione e modelli di business. Per capire questo passaggio epocale, bisogna menzionare i farmaci biotecnologici, che hanno in comune con le terapie avanzate la produzione a partire da organismi viventi, cioè da cellule in coltura, che diffondono macromolecole nel terreno di coltura stesso, oppure le producono al loro interno da dove vengono poi estratte, concentrate, purificate e caratterizzate. Ne sono un esempio gli anticorpi monoclonali e le proteine ricombinanti, sul mercato da oltre 30 anni. La differenza fondamentale tra le terapie avanzate e i farmaci biotecnologici "tradizionali" è il prodotto finale, perché dalle macromolecole prodotte dalle cellule, si passa alle cellule che costituiscono esse stesse il farmaco, con un concetto di medicina non più per masse di popolazioni ma personalizzata per il singolo paziente o nicchie di pazienti.

C'è stata parecchia discussione negli ultimi anni se queste terapie possano considerarsi veri e propri farmaci e ad oggi le terapie avanzate sono considerate a tutti gli effetti "farmaci", soprattutto i prodotti di terapia genica come le CAR-T per i quali è stato dimostrato il meccanismo d'azione. Le terapie avanzate a base di cellule possono essere suddivise in autologhe, quando derivano da cellule estratte dal paziente, o allogeniche, quando le cellule sono fornite da un donatore sano.

La produzione delle CAR-T

La prima grossa rivoluzione si ha in termini di prodotto e produzione. Nel caso delle terapie CAR-T il processo di produzione prevede diversi passaggi che devono essere eseguiti secondo le leggi GMP (Good Manufacturing Practice) in impianti autorizzati dall'ente regolatorio nazionale. Il primo step dell'iter produttivo avviene in centri trasfusionali autorizzati e prevede la raccolta dei leucociti tramite leucaferesi (Fig.3), che consiste nel prelevare il sangue periferico dal corpo del paziente, separare i leucociti e reimmettere in circolo i restanti

elementi ematici. Il prodotto della leucaferesi viene arricchito di linfociti T utilizzando specifici anticorpi e processi di centrifugazione e viene quindi congelato e spedito nelle officine altamente specializzate e certificate (le cosiddette "cell factories"). È qui che i linfociti subiscono il processo di ingegnerizzazione genetica. I linfociti T vengono attivati con cellule, anticorpi o sfere ricoperte da anticorpi monoclonali appropriati che possono essere facilmente rimossi tramite separazione magnetica. Viene introdotto in coltura un vettore virale (virus ricombinante) che codifica per un gene ricombinante: il Recettore Chimerico dell'Antigene (CAR). In particolare, il vettore introduce materiale genetico che si integra in maniera permanente nel genoma delle cellule del paziente. Pertanto, l'espressione del CAR viene mantenuta mentre le cellule si dividono e vengono espanse nel bioreattore. In questo modo il recettore sarà espresso sulla superficie dei linfociti T, dando origine alle cellule CAR-T. Il recettore chimerico permetterà ai linfociti T modificati di riconoscere un antigene specifico presente sulla superficie delle cellule tumorali (CD-19, nel caso delle prime terapia CAR-T approvate) e di legarsi ad esse per distruggerle.

Altri metodi innovativi di trasferimento genico non prevedono l'uso di vettori virali bensì di vettori genetici chiamati trasposoni. Si tratta di elementi genetici mobili che sono in grado di integrarsi in vari siti del genoma grazie ad un enzima specifico, chiamato trasposasi, che taglia il DNA. Il trasposone "Sleeping Beauty" (SB) è un sistema di integrazione non virale con provata efficacia per il trasferimento genico. La strategia in questione si basa sul fornire alle cellule, mediante il sistema di elettroporazione, la trasposasi e il trasposone SB, contenente la sequenza genica del CAR. La trasposasi riconosce le sequenze invertite/ripetute fiancheggianti la sequenza del CAR e il materiale genetico si integra così nel genoma dei linfociti T. La manipolazione può essere eseguita durante l'attivazione dei linfociti T o nei successivi 1-3 giorni. In questo caso l'efficienza è più elevata a causa del maggior numero di cellule in divisione attiva. Il processo stesso prevede l'aggiunta del vettore nel mezzo di coltura. Dopo diversi giorni il vettore viene lavato via dalla coltura mediante diluizione e/o cambio di terreno.

Per la maggior parte delle terapie cellulari, infine, è necessaria l'espansione delle cellule per raggiungere la dose clinica richiesta. Sono disponibili diverse piattaforme che consentono l'espansione delle cellule CAR-T. Oggi nelle officine specializzate non vi sono più impianti con i fermentatori tradizionali di acciaio, ma si utilizzano bioreattori modulari e monouso: si parla di "Single Use Technology" (SUT), cioè bioreattori di plastica che rispondono al concetto di alta superficie rispetto al volume. E che, alla fine del processo, vengono eliminati, rivelandosi ideali per questo tipo di colture. Per ottimizzare ulteriormente i requisiti di controllo in fase di fabbricazione e di controllo qualità esiste poi uno strumento, adatto per le terapie CAR-T: CliniMACS Prodigy, un sistema chiuso in grado di offrire soluzioni integrate che permettono di standardizzare il processo di ingegnerizzazione delle cellule in completa automazione.

Il processo di produzione ha una durata di 12-16 giorni. Quando il processo di espansione cellulare è terminato, e ha raggiunto numeri rilevanti di cellule per le dosi terapeutiche necessarie, le cellule vengono lavate, concentrate, crioconservate in una dose da infondere nel paziente e successivamente inviate al centro che dovrà somministrare il trattamento. Prima dell'infusione, il paziente è sottoposto a una chemioterapia linfodepletiva, che permette ai linfociti T modificati di espandersi e attivarsi nell'organismo. Le cellule CAR-T vengono infuse nel paziente, con un procedimento simile a una trasfusione di sangue. L'infusione avviene in centri ad alta specializzazione per il trattamento delle leucemie e dei linfomi, con disponibilità di accesso alla terapia intensiva. Dopo l'infusione, il paziente viene sottoposto a monitoraggio per reazioni avverse al trattamento. Nelle quattro settimane successive alla dimissione, il paziente deve comunque rimanere nei pressi di una struttura clinica qualificata per essere sottoposto a regolari controlli.

A causa della natura complessa dei prodotti con cellule CAR-T, è necessario approntare una serie di test di controllo di qualità durante il processo di produzione che comprendono i test di sicurezza (sterilità, endotossine, micoplasma) e altri test specifici con l'obiettivo di attestarne il potenziale, l'identità e la stabilità. Tutti questi test contribuiscono in maniera importante ai costi di produzione.

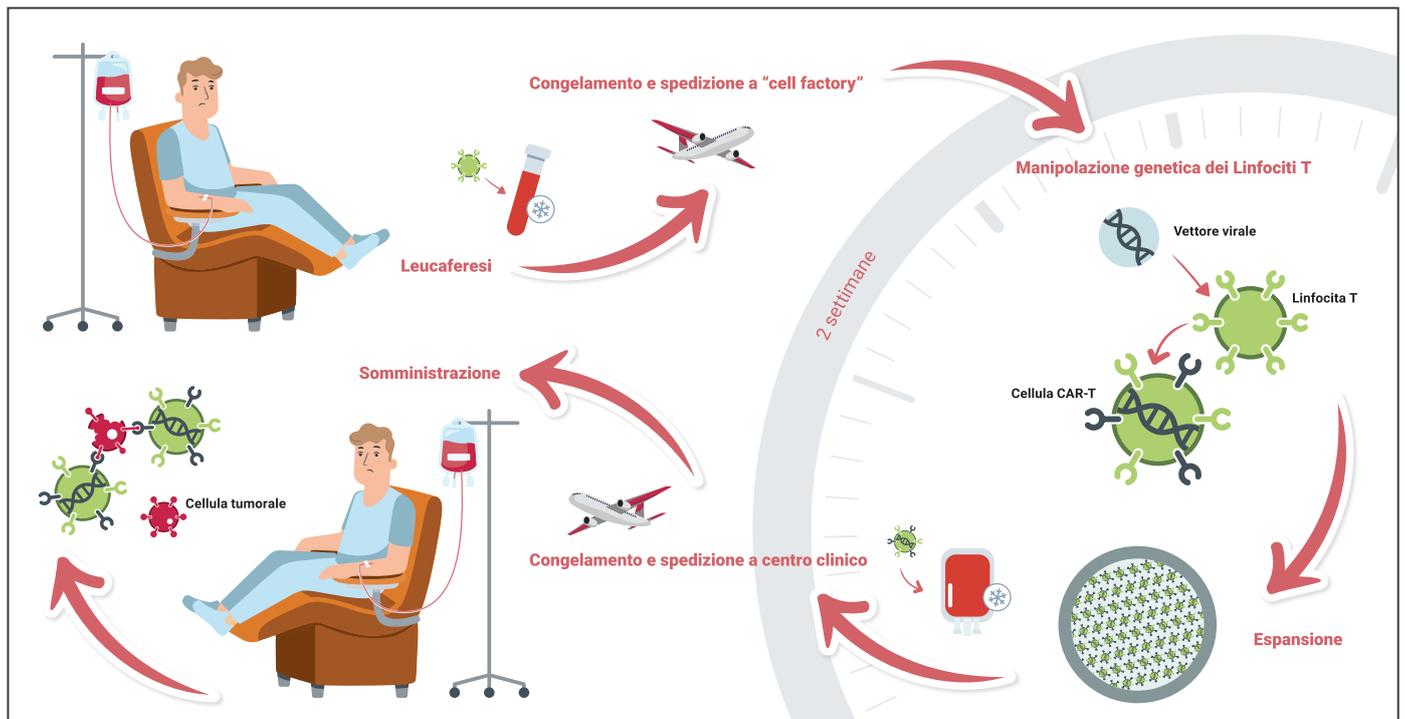


Figura 3: Produzione e somministrazione della CAR-T, dal paziente al paziente

Le cellule destinate al processo di ingegnerizzazione genetica vengono prelevate dal paziente attraverso una tecnica nota come leucaferesi. Successivamente vengono congelate e spedite alle officine produttive dove si realizza il processo di manipolazione dei linfociti T che permette l'espressione del recettore CAR. A questo punto le cellule vanno incontro a una procedura di espansione al termine della quale vengono congelate e rispedite al centro clinico dove possono essere reinfuse nel paziente da cui sono state inizialmente prelevate

La produzione del vettore

Parallelamente alla produzione delle cellule CAR-T, nelle officine viene prodotto anche il vettore virale. Tra i virus più utilizzati ci sono i lentivirus e i retrovirus, ma si possono utilizzare anche i virus adeno-associati (AAV). I primi, in particolare, forniscono un profilo di integrazione genomica più sicuro, motivo per cui sono stati comunemente usati negli studi clinici di terapie CAR-T. A differenza del prodotto finale delle cellule CAR-T, che deve essere generato individualmente per ogni paziente, il vettore virale che codifica per il CAR può essere prodotto in grandi quantità e conservato a -80°C per periodi compatibili con la sua stabilità. Come per il processo di produzione delle cellule CAR-T, la generazione degli stock di vettori deve avvenire in strutture GMP.

La produzione del virus viene effettuata utilizzando una specifica linea cellulare partendo da una "Master Cell Bank" (MCB) che deve essere caratterizzata e testata in laboratori specializzati per contaminanti come batteri, funghi, micoplasmi e virus avventizi, soprattutto per quanto riguarda la validazione virale. La sterilità del vettore è fondamentale perché il prodotto finale, le cellule CAR-T, non può essere sterilizzato mediante filtrazione. Tutto il processo è supportato e verificato da una serie di test di sicurezza, che ne garantiscono la sterilità. Quando il virus è pronto si preparano una serie di aliquote che vengono crioconservate e serviranno di volta in volta per ingegnerizzare le cellule T dei diversi pazienti.

Il controllo di qualità

A differenza dei farmaci "tradizionali", i farmaci per terapie avanzate non possono essere sterilizzati alla fine del processo, pertanto queste terapie vengono prodotte in asepsi per assicurarne la sterilità. Per conseguire questo obiettivo si devono sviluppare processi robusti che garantiscano che il prodotto da infondere sia sterile. Il concetto che ne emerge è che la qualità del prodotto corrisponde alla qualità del processo stesso. La garanzia della sterilità del prodotto finito passa attraverso un processo complesso chiamato assicurazione

di sterilità che comprende diversi test: da quelli di sterilità del terreno di coltura, al monitoraggio ambientale e degli operatori, alla formazione continua del personale. Le aree di produzione devono essere mantenute sterili e pulite, ed è necessario ridurre la variabilità e il rischio di contaminazione.

Va da sé che più l'officina è dedicata più si riesce a controllare il processo. Motivo per cui anche le officine che producono le terapie CAR-T oggi in commercio, che stanno affrontando il concetto dello "scale-up" (cioè il passaggio alla produzione su scala industriale), devono sempre mantenere lo status di impianto dedicato e garantire l'assicurazione di sterilità. Ogni officina specializzata deve rispondere a una serie di regole che vengono imposte dagli enti regolatori sulla base del prodotto che si vuole produrre.

Rivoluzione di "business model"

Accanto alla rivoluzione di prodotto c'è stata anche una rivoluzione di business model. Se infatti prima il processo di "drug discovery" (ovvero il processo di scoperta del farmaco) veniva condotto internamente nelle unità di ricerca e sviluppo (R&D) delle aziende, con l'avvento delle terapie avanzate l'approccio è cambiato. Le aziende non hanno più reparti interni che si occupano di sviluppare nuovi prodotti, ma - soprattutto nelle fasi iniziali di questi progetti ad alto costo e specializzazione - tendono a creare alleanze con l'accademia, piccole biotech e centri di ricerca. L'obiettivo è passare il più possibile immuni attraverso la cosiddetta "valle della morte": la prima tappa nello sviluppo di un nuovo farmaco, generalmente molto dispendiosa e che non sempre va a buon fine, che genera una grossa perdita di risorse economiche. Si cerca quindi di accorciare il più possibile questa fase e di portare questi prodotti alla sperimentazione clinica, per poi decidere se è il caso di proseguire con lo sviluppo fino all'autorizzazione al commercio.

Le terapie CAR-T allogeniche

Passare da una terapia CAR-T autologa come quella appena descritta, ad una allogenica, destinata non più a un solo paziente ma ad una nicchia di pazienti, è uno degli sviluppi futuri delle terapie avanzate. Per permettere questo passaggio è necessario compiere un passaggio importate, che è quello di creare banche di cellule. Per trattare un solo paziente non sono necessarie, ma nel caso di una terapia allogenica garantiscono che le cellule siano in numero sufficiente per trattare i pazienti. Il processo per la generazione di queste banche di cellule, sebbene nell'immediato sia più costoso, nel tempo, trattando più pazienti, consentirebbe un ammortizzamento dei costi di produzione. Oggi, questo traguardo non è molto lontano: ci sono processi in fase di sviluppo pre-clinico e clinico che hanno come obiettivo il trattamento di più pazienti e non solo del singolo.

Bibliografia

- Levine B.L., et al., Global Manufacturing of CAR-T Cell Therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2016; 4:92-101
- Iyer R. K., Bowles P.A., Industrializing Autologous Adoptive Immunotherapies: Manufacturing Advances and Challenges. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*, 2018;5:150
- Subklewe M, von Bergwelt-Baildon M, Humpe A., Chimeric Antigen Receptor T Cells: A Race to Revolutionize Cancer Therapy. *Transfus Med Hemother* 2019; 46:15-24
- Wang X., Rivière I. Clinical manufacturing of CAR T cells: foundation of a promising therapy. *Mol Ther Oncolytics*. 2016;3:16015., 2016
- AIFA – Agenzia Italiana del Farmaco, "Le terapie geniche CAR-T". Disponibile a: https://www.aifa.gov.it/documents/20142/0/Terapie_CAR-T.pdf/
- Molecular Diagnostic Services. Master and Working Cell Banks. Disponibile a: <http://www.mds-usa.com/cellbanking.html>

Capitolo 8



VALORE, COSTO E SOSTENIBILITÀ DELLE CAR-T

Claudio Jommi e Patrizio Armeni

Il valore delle CAR-T

Il prezzo "ex factory" di Kymriah, per singola somministrazione, è pari a 320.000 euro al lordo degli effetti degli accordi negoziali, quello di Yescarta 327.000 euro. Data la natura "one-shot" delle due terapie, il prezzo coincide con il costo terapia per paziente, il quale si determina sulla base di alcune motivazioni. La prima è che l'investimento sostenuto e il processo produttivo delle cellule CAR-T è estremamente complesso. Infatti, La produzione di CAR-T e, in generale delle terapie avanzate, presenta, inoltre, un'ulteriore complessità generata dal fatto che la produzione è strettamente collegata alla somministrazione (almeno finché la produzione non potrà avvenire per via allogenica, ovvero partendo dalle cellule di un donatore). Si tratta, infatti, di un processo di produzione personalizzato, fatto *ad hoc* per ogni singolo paziente, a differenza di quanto succede per i farmaci la cui produzione, pur spesso complessa, è scalabile e programmabile in modo strategico. Tuttavia, con il tempo, l'esperienza e l'evoluzione tecnologica, è possibile che la produzione venga ottimizzata e ingegnerizzata sempre di più, con conseguente riduzione dei costi unitari di produzione. La seconda motivazione alla base della definizione del prezzo è dovuta alla popolazione di riferimento cui sono state destinate finora queste terapie; un target molto limitato, con un basso numero di pazienti. Le pipeline indicano che in futuro ci sarà un'estensione delle indicazioni trattabili tramite terapie CAR-T, con nuovi lanci sul mercato che non necessariamente riguarderanno malattie rare o ultra-rare. Questo porterà certamente, come avvenuto per altri farmaci, ad una diminuzione dei prezzi.

È opportuno precisare che il prezzo è un aspetto di indubbio rilievo, ma non coincide né con l'impatto economico complessivo sul singolo paziente (che dipende da molti altri fattori, inclusa l'efficacia stessa del farmaco) né con l'impatto finanziario complessivo per il Servizio Sanitario Nazionale. Quest'ultimo, in particolare, pur con prezzi elevati, non è molto elevato fintanto che il numero di pazienti si mantiene basso, ma potrebbe diventare un tema rilevante, anche con prezzi in diminuzione, qualora le condizioni-target riguardassero numeriche più estese. È importante, quindi, inquadrare il tema "prezzo" in una prospettiva più ampia e pragmatica e non puramente segnaletica.

Valutazione di costo-efficacia

Il tema più rilevante, nella prospettiva di chi valuta e di chi paga per i farmaci è se il prezzo è giustificato da un adeguato beneficio per il paziente. Bisogna quindi considerare se le CAR-T e, in generale le terapie avanzate, siano in grado di generare un valore per il paziente (e per la società) superiore rispetto allo sforzo economico che il Servizio Sanitario applica per garantire il trattamento. Esistono diversi contributi in letteratura che hanno affrontato l'applicazione dei metodi di valutazione di impatto delle tecnologie sanitarie alle terapie avanzate e, in particolare, alle terapie geniche. Questi contributi sottolineano, data la natura degli studi clinici (studi su un numero esiguo di pazienti, di breve periodo, a braccio singolo), l'incertezza sull'effetto delle terapie CAR-T, e la necessità di corroborare le evidenze degli studi registrativi con dati post marketing che possano confermare i dati sperimentali. La durata degli effetti nel tempo non è un problema specifico delle terapie CAR-T, ma essendo terapie ad alto costo per paziente gestito, l'incertezza degli effetti rappresenta un elemento di rilevanza ancora maggiore. Essendo poi terapie "one-shot" e non croniche (o comunque di durata relativamente lunga), la distribuzione dei costi e dei benefici nel tempo è molto peculiare, con costi importanti sostenuti nel breve e benefici duraturi in futuro, se il paziente risponde alle terapie. Anche per altri farmaci, al momento del loro lancio sul mercato, è utile estrapolare gli effetti nel lungo periodo essendo i trial registrativi di durata più o meno breve. Ma l'incertezza degli effetti e l'attesa che il beneficio risulti duraturo, e cioè risolutivo della patologia, richiede a maggiore ragione per le CAR-T una grande attenzione e l'accettazione di ampi margini di incertezza nell'effettuare tali estrapolazioni.

Successivamente, bisogna valutare la coerenza tra beneficio e costo rispetto ad eventuali alternative presenti sul mercato. Le analisi di costo-efficacia rispondono a questo obiettivo, misurando l'incremento di costo per unità di beneficio incrementale ottenuta da una nuova terapia rispetto allo "standard of care" o, se non c'è un comparatore attivo, rispetto all'assenza di trattamento. La letteratura ha ampiamente discusso sull'opportunità di definire delle linee guida specifiche sulle valutazioni economiche applicate alle terapie avanzate - in particolare le terapie geniche - e il suggerimento è quello di condurre tali studi sulla base delle raccomandazioni esistenti per altri farmaci, con un'attenzione però agli effetti del più forte disallineamento temporale tra costi e benefici (e la necessità quindi di valorizzare bene i benefici futuri) di adottare la prospettiva sociale nella valutazione dei costi, vista la natura delle patologie target, e di effettuare valutazioni post marketing per capire quanto i benefici si siano effettivamente concretizzati.

È interessante osservare che proprio su Kymriah e Yescarta siano state pubblicate due analisi di costo-efficacia, contenute all'interno del dossier tecnico pubblicato da AIFA. L'analisi, elaborata da AIFA a partire dal dossier trasmesso dalle due imprese titolari dell'Autorizzazione all'Immissione in Commercio, mostra un incremento dai 3,35 a 8,42 anni di vita in condizioni di perfetta salute, che, pur in presenza di un notevole costo incrementale a carico del Servizio Sanitario Nazionale per paziente trattato (si passa da 183 a 274 mila Euro), valutato al netto degli effetti degli accordi negoziali, produce un incremento di costo per unità di beneficio tra 32 mila e 55 mila euro, in linea con i valori soglia riconosciuti in altri Paesi (ad esempio, Inghilterra) per pazienti con una bassa aspettativa di vita. Si tratta, però, di dati che risentono dell'incertezza di cui si è già fatto cenno e che devono essere soggetti ad una rivalutazione nel tempo. Importanza cruciale, a tal proposito, avrà la progressiva disponibilità di dati "real world" (i dati raccolti nelle circostanze di vita reale, al di fuori del contesto degli studi clinici) e non sugli effetti di lungo termine nei pazienti trattati.

Modelli di pagamento

Nonostante l'elevato costo unitario per paziente delle terapie CAR-T, l'incertezza sugli effetti e il disallineamento temporale tra i costi sostenuti per le terapie (con i relativi costi di somministrazione e di gestione degli effetti collaterali) e benefici, le terapie CAR-T sono di fatto rimborsate in tutti i principali Paesi Europei. Il rimborso è stato però ottenuto grazie alla stipulazione di accordi negoziali (i cosiddetti Managed Entry Agreements), tesi da una parte a ridurre o modulare diversamente l'impatto sui costi (sconti confidenziali e frazionamento

dell'impegno economico) e dall'altra a gestire l'incertezza (copertura piena da parte dei sistemi pubblici di pazienti rispondenti solo ad ottenimento del risultato).

Per entrambe le terapie è stato messo in atto, in Italia, un meccanismo di pagamento particolare, detto "payment at results", che pone al centro della procedura di definizione del prezzo la cura del paziente e il risultato ottenuto dalla terapia. Nel caso di tisagenlecleucel il pagamento della terapia viene diviso in tre tranche, la prima pagata al momento dell'infusione, la seconda a sei mesi e la terza a 12 mesi. Le ultime due sono quindi determinate dai risultati ottenuti. Per axicabtagene ciloleucel il pagamento viene effettuato a 180, 270 e 365 giorni dall'infusione; dipende quindi totalmente dall'outcome dei pazienti. Si è preferito adottare questo modello, che garantisce rispetto ad altri più consolidati (come il "payment by results", sistema tradizionalmente usato per i farmaci oncologici, che prevede un pagamento da parte del SSN e un rimborso da parte dell'industria in caso di inefficacia del trattamento, rivalutata nel breve periodo, generalmente a 3 o 6 mesi) un maggiore frazionamento nel tempo dei costi e più momenti di rivalutazione.

In Spagna è stato applicato un modello "outcome-based" con una struttura molto simile a quella italiana. In Inghilterra le due terapie CAR-T sono state inserite nel "Cancer Drugs Fund" (il fondo per i farmaci oncologici), con un rimborso temporaneo di due anni e la raccolta di evidenze post marketing per una decisione definitiva sull'accesso. In Germania, oltre agli sconti, negoziati per gran parte dei farmaci ad un anno dall'ingresso sul mercato a prezzo liberamente determinato dalle imprese, alcune assicurazioni sociali hanno praticato "outcome-based agreement" che prevedono un pagamento parziale "upfront" e un saldo a risposta del paziente.

Sostenibilità finanziaria

La coerenza tra valore e costo rappresenta certamente il primo elemento essenziale per valutare le condizioni di accesso di un farmaco. Tuttavia, non si può prescindere dalla sostenibilità, ovvero della coerenza tra spesa - che dipende non solo dal costo per paziente, ma anche dalla numerosità dei pazienti - e risorse stanziato. La sostenibilità è di per sé un concetto relativo, in quanto dipende dalle risorse messe in campo. Su questo l'Italia ha deciso da tempo di definire *ex ante* le risorse per la farmaceutica in percentuale rispetto ai fondi per la sanità pubblica (i cosiddetti tetti di spesa) e di prevedere fondi *ad hoc* per i farmaci innovativi (incluse le due CAR-T), che nei primi tre anni di applicazione sono stati rispettati. Si tratta certamente di un approccio semplice e fortemente ancorato ai vincoli di finanza pubblica, ma totalmente svincolato dall'andamento dei bisogni e delle tecnologie. Infatti, non tiene conto delle pipeline né delle scadenze brevettuali, che possono richiedere un aumento o una riduzione delle risorse dedicate ai farmaci in proporzione a quelle complessive per sanità pubblica.

In prospettiva è, comunque, importante porre attenzione agli effetti che le nuove indicazioni delle CAR-T esistenti e future avranno sulla spesa. Le aziende dovranno rivedere le strategie di prezzo, perché non sarà sostenibile una terapia molto costosa con un allargamento importante della popolazione target. Una riduzione dei prezzi o un aumento degli sconti sarà certamente attesa dai pagatori e, indirettamente, dai contribuenti. D'altra parte, come sopra osservato, non è detto che i costi di produzione si riducano sensibilmente all'aumentare dei pazienti trattati. Se fosse così, la riduzione dei prezzi potrebbe ridurre le marginalità di impresa, scoraggiando ulteriori investimenti in questo settore.

Una soluzione per allocare la spesa su più anni è la rateizzazione dei pagamenti (cosiddetto "annuity payment"), applicata in Germania all'ultima terapia avanzata lanciata sul mercato (la terapia genica Zolgensma per l'atrofia muscolare spinale) con associato accordo "outcome-based". Si tratta di un modello non semplice da applicare in quanto il farmaco è una spesa corrente, mentre la rateizzazione in diversi anni equivale ad un ammortamento, possibile solo per le spese di investimento.

Sostenibilità organizzativa

Oltre alla sostenibilità finanziaria va però considerata anche la sostenibilità organizzativa che prevede un'adeguata scelta dei centri erogatori di tali terapie e dei finanziamenti *ad hoc* per gestire l'impatto organizzativo delle terapie CAR-T. Siamo in un momento in cui, dopo anni di orientamento al contenimento della spesa, sta crescendo l'interesse per la sanità pubblica a livello politico e sarebbe importante investire anche su organizzazione e competenze nei centri di riferimento delle CAR-T.

Altri Paesi si sono mossi in tale senso. In Francia, dove gli ospedali vengono rimborsati a tariffa per prestazione (in modo simile all'Italia), è stata prevista una remunerazione accessoria per giornata di degenza, in caso di somministrazione di cellule CAR-T. In Germania è stato previsto un sistema di accesso a fondi *ad hoc* per tecnologie innovative che abbiano un importante impatto organizzativo (sistema NUB). Dovrebbe essere previsto un finanziamento ad hoc per la gestione delle CAR-T (finanziamento per funzione) o in finanziamento integrativo rispetto al DRG⁶ (Diagnosis Related Groups, ovvero raggruppamenti omogenei di diagnosi) di riferimento, DRG che non è stato ancora definito (gli ospedali ricevono un rimborso per prestazione basato sulla tariffa DRG del trapianto autologo).

⁶ DRG (Diagnosis Related Groups) è il sistema di retribuzione degli ospedali per la loro attività di cura

Bibliografia essenziale

- AIFA Report tecnico Kymriah® (tisagenlecleucel), 19/06/2020. Disponibile a: https://www.aifa.gov.it/documents/20142/1028586/Kymriah_Report_Tecnico_03.12.2019.pdf
- AIFA Report tecnico Yescarta™ (axicabtagene ciloleucel), 12/06/2020. Disponibile a: https://www.aifa.gov.it/documents/20142/1028586/Yescarta_Report_Tecnico_12.06.2020.pdf
- Angelis A, Naci H, Hackshaw A. Recalibrating Health Technology Assessment Methods for Cell and Gene Therapies. *Pharmacoeconomics* 2020 Sep 22
- Coyle D, Durand-Zaleski I, Farrington J, et al. HTA methodology and value frameworks for evaluation and policy making for cell and gene therapies, *Eur J Health Econ.* 2020- 21(9):1421-1437
- ATMP Forum, Secondo Report Italiano sulle Advanced Therapy. Disponibile a: https://www.atmpforum.com/media/com_atmp/DOC_20191030091802.pdf

Capitolo 9



ACCESSO AI PAZIENTI IN ITALIA

Riccardo Saccardi

L'iter di accreditamento di un centro che somministra CAR-T

Il percorso che conduce un centro clinico alla possibilità di somministrare terapie complesse come quelle a base di cellule CAR-T è strutturato su diversi livelli. Un primo livello istituzionale è quello definito dall'aderenza alle Linee Guida diffuse dall'AIFA che stabiliscono quali siano i centri che tecnicamente hanno la possibilità di somministrare le CAR-T. Questi devono essere autorizzati ad effettuare il trapianto allogenico di cellule staminali del sangue e sono in possesso di un accreditamento JACIE per il trapianto allogenico in tutte le sue componenti: l'Unità Clinica, il laboratorio di processazione e l'unità di raccolta delle cellule. La normativa AIFA prescrive anche che all'interno dell'ospedale debba essere disponibile un'unità di terapia intensiva e che esista un team multidisciplinare adeguatamente formato per la gestione degli effetti collaterali relativi alla somministrazione del farmaco.

La normativa AIFA fa riferimento all'accREDITamento JACIE (Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT) - un'agenzia creata nel 1998 dalla Società Scientifica Europea Trapianti Midollo (EBMT, European Group for Blood and Marrow Transplantation) e dalla Società Internazionale di Terapia Cellulare (ISCT, International Society for Cellular Therapy) - che, assieme alla sua controparte americana FACT (Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy), ha stabilito la Joint Commission FACT-JACIE con cui è stato concepito l'accREDITamento JACIE. Questo sistema definisce i requisiti che una struttura sanitaria deve rispettare per poter operare nell'ambito delle fasi di raccolta, manipolazione e utilizzo clinico delle cellule staminali al fine di garantire il buon funzionamento di un programma di trapianto di midollo. Una seconda finalità di questa iniziativa è quella di promuovere la garanzia di un livello assistenziale minimo nei Paesi membri dell'Unione Europea. In questo standard corposo (composto da circa mille capoversi) si fa riferimento a come devono essere gestite le varie procedure tenendo sotto controllo l'intero processo. Tale accREDITamento stabilisce, ad esempio, come sia necessario rivedere periodicamente la casistica e verificare se i risultati siano coerenti con quelli riportati in letteratura. Inoltre, esso stabilisce le competenze del personale medico e infermieristico e quali siano i requisiti strutturali e tecnologici che un centro che effettua trapianti allogenici, da donatore a ricevente, debba possedere. Il secondo livello è quello regionale, dal momento che l'autorizzazione alla somministrazione del farmaco è demandata alle Regioni, le quali hanno la facoltà di individuare al loro interno uno o più centri che soddisfino i suddetti requisiti.

La normativa italiana stabilisce che il centro, in attesa dell'autorizzazione dalla Regione, debba essere in possesso di un accreditamento JACIE in corso di validità (l'accreditamento JACIE ha la durata di 4 anni al termine dei quali deve essere rinnovato). JACIE, considerata la diffusione a livello mondiale di terapie a base di cellule ingegnerizzate, nelle ultime pubblicazioni dei suoi standard ha aggiunto elementi dedicati alla terapia con cellule immunoeffettrici (IEC, Immune Effector Cells)⁷, quali sono le CAR-T, specificando in dettaglio cosa dovrebbe essere disponibile nel caso in cui il centro voglia chiedere un accreditamento comprensivo dell'erogazione delle terapie con cellule CAR-T e non solo del trapianto allogenico "convenzionale".

In Italia, l'accreditamento per le IECs non è richiesto dalla normativa nazionale, ma è un'iniziativa su base volontaria che un centro trapianti, già accreditato per il trapianto allogenico, può richiedere con la finalità di essere valutato per quelle procedure tipiche ed esclusive della somministrazione delle cellule CAR-T. In altri Paesi, quali il Regno Unito, l'autorità competente ha richiesto l'accreditamento JACIE per le IECs quale passaggio indispensabile per poter somministrare queste terapie. Qui è stata fatta una valutazione di tipo geografico del numero di centri necessari alla copertura territoriale. I centri individuati hanno in seguito richiesto ed ottenuto l'accreditamento JACIE per IECs per poter essere autorizzati.

Il sistema "Hub and Spoke"

Occorre fare una distinzione tra la fase di somministrazione del farmaco – e quindi il centro che è autorizzato fisicamente a prendere in carico il paziente e trattarlo – e i meccanismi di reclutamento dei pazienti. Dal momento che i pazienti candidati al trattamento possono essere individuati in qualsiasi area del Paese, anche in ospedali periferici sprovvisti di un centro trapianti e tanto meno di un centro trapianti che gestisca le terapie a base di cellule CAR-T, è importante che venga istituito un network che provveda a un'adeguata formazione degli ematologi del territorio (ad oggi le CAR-T autorizzate sono solo per pazienti ematologici) su questa opzione terapeutica. Essi devono applicare i criteri dettati dall'autorità sanitaria per individuare i pazienti eleggibili al trattamento e quindi prendere contatto con un centro autorizzato a cui inviare il paziente. È indispensabile mantenere la migliore sinergia tra il centro che invia il paziente (Centro Spoke) ed il centro che effettua il trattamento (Centro Hub). All'ematologo del Centro Spoke spetta la corretta individuazione del candidato (cioè che le indicazioni imposte dall'AIFA siano rispettate) e la segnalazione al Centro Hub mediante la trasmissione di un'adeguata documentazione clinica del paziente proposto. Quest'ultimo, se l'indicazione è confermata, deve prendere in carico il paziente ed avviare il percorso terapeutico, composto essenzialmente dalla raccolta delle cellule, la loro spedizione al centro di produzione, la somministrazione al paziente del prodotto finale e la gestione delle complicanze e del follow-up. Nel periodo che precede immediatamente la raccolta delle cellule si devono osservare particolari precauzioni: tra queste, si deve evitare la somministrazione di terapie antitumorali che potrebbero pregiudicare un'efficace raccolta di linfociti del paziente, impedendo quindi la corretta produzione delle cellule CAR-T. Nell'intervallo tra la raccolta dei linfociti e il trattamento del paziente si possono praticare terapie di contenimento della malattia ("bridge therapy" o terapia ponte), evitando però trattamenti che potrebbero pregiudicare lo stato del paziente subito prima dell'infusione delle cellule CAR-T. Questi trattamenti, quali la "bridge therapy" e alcuni presidi diagnostici strumentali, possono essere effettuati nel Centro Spoke, previo accordo con il Centro Hub; per questo è necessario uno stretto contatto tra i due centri che garantisca la perfetta sinergia in termini di scelta dei trattamenti e tempi di somministrazione.

L'attivazione di un centro che somministra CAR-T

Come già anticipato, ogni centro deve essere autorizzato dalla Regione ma, ad oggi, tutte le aziende produttrici di terapie CAR-T dispongono di un percorso di qualifica che prevede l'ispezione da parte di monitor dell'azienda stessa che verificano che il centro abbia effettivamente messo in atto tutto quello che viene richiesto per una

⁷ Le IECs sono cellule del corpo umano in grado di modulare o stimolare una risposta immunitaria.

efficace e sicura somministrazione delle terapie CAR-T. Una volta che la Regione ha individuato i centri e li ha ufficialmente autorizzati attraverso una apposita delibera, le aziende fanno una cernita di tutti i centri autorizzati in Italia e stabiliscono una sorta di cronoprogramma con il quale stabiliscono le priorità di qualifica.

Il processo di qualifica inizia con l'invio da parte del produttore della documentazione che descrive i requisiti tecnici. A questa fa seguito un primo incontro tra i rappresentanti dell'azienda e i referenti del centro, durante il quale è richiesta anche la presenza della direzione aziendale per una più completa condivisione delle responsabilità che comprendono anche l'eventuale reperimento di risorse aggiuntive. A tutto ciò fa seguito un audit, con un team di ispettori dell'azienda che verifica sul campo la presenza dei requisiti tecnici richiesti. Viene dunque inviato un report con le osservazioni del team ispettivo e le eventuali richieste di adeguamento, a cui il centro risponde con una documentazione che attesti l'attuazione degli adeguamenti richiesti. L'azienda produttrice emette l'attestazione di qualifica al momento in cui la documentazione inviata dal centro viene considerata soddisfacente.

Da un punto di vista amministrativo il pagamento del farmaco è contrattualizzato da AIFA con un procedimento di pagamento sulla base del risultato ("payment at results"). È però necessario che vi sia un accordo legale tra l'azienda del Centro Hub ed il produttore che adotti le modalità stabilite da AIFA e fissi i dettagli amministrativi.

La retribuzione dei centri in seguito all'erogazione delle CAR-T

Dal punto di vista amministrativo è stabilita solamente la contrattazione tra AIFA e l'azienda produttrice per la retribuzione del farmaco mentre non è previsto per il Centro Hub alcun riconoscimento economico per l'assistenza clinica fornita al paziente durante, e dopo, la somministrazione di terapie a base di cellule CAR-T, sotto forma, ad esempio, di un apposito DRG (Diagnosis Related Group, sistema di retribuzione degli ospedali per la loro attività di cura).

Mediamente, un paziente sottoposto a terapia CAR-T viene ricoverato per un periodo di circa 10-14 giorni nell'unità trapianti; in letteratura viene riportato che una percentuale variabile dal 3 al 20% necessita del ricovero in terapia intensiva con un ulteriore incremento dei costi di degenza. È poi necessario creare un team multidisciplinare provvedendo quindi alla formazione degli operatori. Nel centro presso cui svolgo la mia attività sono stati formati circa 120 operatori tra medici e infermieri della terapia intensiva, neurologi, microbiologi, personale del centro trapianti. Anche quest'attività ha un costo in termini di impiego di risorse umane.

La retribuzione dei costi di trattamento viene affrontato con modalità diverse nei vari Paesi europei. In Germania le spese vive vengono contabilizzate e l'ospedale viene rimborsato sulla base di quello che effettivamente spende. In Francia si applica un DRG che è uguale a quello di un trapianto allogenico. In Italia non esiste ancora nulla di simile, se non a livello regionale.

Queste considerazioni introducono l'argomento della valutazione delle risorse e dei costi che ogni azienda dovrebbe fare prima di iniziare un'attività del genere. È necessario predisporre un'analisi dettagliata dei costi, ipotizzando un numero presumibile dei pazienti per i quali sarà annualmente richiesto l'intervento. Un'analisi preliminare svolta nel nostro centro ha calcolato che, nell'attuale situazione di spazi, logistica e risorse umane, per un numero di 40 pazienti all'anno sarebbe necessario circa 1 milione di euro all'anno per sostenere i costi assistenziali, rappresentati da personale aggiuntivo, i costi della degenza, della diagnostica strumentale, delle visite e terapie ambulatoriali.

Il computo è stato effettuato sulla base dell'analisi di una corposa letteratura che descrive nel dettaglio il percorso del paziente ed elenca in media il numero di giorni di ricovero in regime ordinario o di terapia intensiva e le visite ambulatoriali previste. Sulla base di queste stime è stata predisposta una delibera aziendale che ci ha dato la possibilità di poter richiedere altro personale in tutti i settori del programma (clinica, trasfusionale, laboratorio di processazione), consentendoci di assorbire meglio l'impatto dell'inizio dell'attività. È un tipo di analisi che ogni azienda dovrebbe fare, pena il rischio di negative ripercussioni sulla normale attività clinica. Trattandosi infatti di attività da svolgere nell'ambito del programma trapianti allogenico, si deve evitare il rischio che l'inizio dell'attività con CAR-T comporti l'allungamento della lista di attesa per i pazienti in attesa di trapianto di midollo.

Vi sono poi aspetti procedurali che debbono essere chiariti prima dell'inizio dell'attività. Mi riferisco in particolare alla disponibilità di spazi nelle terapie intensive, dal momento che un paziente a cui è stata infusa un'unità di

cellule CAR-T può sviluppare degli effetti collaterali talora molto gravi nel giro di poche ore, rendendo necessario il trasferimento in terapia intensiva con poco preavviso. È a questo punto necessario elaborare e approvare una procedura di livello aziendale che preveda una movimentazione delle degenze tale da garantire un trasferimento in terapia intensiva in tempi adeguati, così come per tutta la diagnostica necessaria.

I tempi di attesa dalla diagnosi alla somministrazione della terapia

L'arruolamento di un paziente in un programma di terapia CAR-T necessita di una gestione particolare della lista di attesa. La gravità del quadro clinico associata alle limitazioni terapeutiche sopraelencate, rende assolutamente necessaria una stretta intesa tra i Centri Hub e gli Spoke, che consenta di programmare in anticipo le procedure diagnostiche e terapeutiche non appena viene posto il sospetto del fallimento di una terapia convenzionale, e di conseguenza l'indicazione al trattamento con cellule CAR-T. In pratica, i due centri dovrebbero seguire congiuntamente il processo programmando la fase di preparazione all'intervento sulla base di un ipotetico cronoprogramma da adattare via via in base alle condizioni cliniche del paziente.

È infine importante ricordare che la precocità della diagnosi, e del riconoscimento dell'indicazione, contribuiscono in larga misura al successo del trattamento. Si deve, in particolare, sottolineare agli ematologi dei Centri Spoke che la terapia con CAR-T non può essere considerata una terapia di salvataggio in pazienti "end-stage", pena l'insuccesso di un trattamento fortemente innovativo che consente oggi di aprire orizzonti prognostici insperabili a pazienti affetti da forme particolarmente aggressive e in cui le cure convenzionali hanno mostrato una sostanziale inefficacia. Va infatti ricordato che una delle più frequenti cause di perdita dell'indicazione al trattamento è rappresentato da un decadimento delle condizioni generali tali da superare lo score 1 della scala ECOG-PS (Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status)⁸. L'impiego della CAR-T in un paziente fortemente debilitato, o con malattia troppo avanzata, implicherebbe un elevato rischio sia di complicanze gravi che di recidiva di malattia, comportando dunque un bilancio tra rischi e benefici attesi del tutto sfavorevole.

La distribuzione dei centri che svolgono questa attività in Italia è oggi piuttosto disomogenea, evidenziando una netta preponderanza delle regioni del Nord Italia. Pertanto, è essenziale che le Istituzioni e le aziende farmaceutiche coinvolte nella produzione di terapie con cellule CAR-T si impegnino sinergicamente per colmare questo gap, garantendo un accesso diffuso a tutti i cittadini di questi strumenti terapeutici di cui si intravede, sin da oggi, un consistente sviluppo nel medio e lungo termine.

⁸ Si tratta di una scala ideata dall' Eastern Cooperative Oncology Group per misurare l'impatto della malattia sulle capacità di vita quotidiana del paziente oncologico (noto come "performance status" del paziente)

Bibliografia

- EBMT – European Society for Blood and Marrow Transplantation. JACIE Accreditation. Disponibile a: www.ebmt.org/jacie-accreditation

Capitolo 10



IL RUOLO DELLE ASSOCIAZIONI AL FIANCO DEI PAZIENTI

Elisabetta Iannelli, Davide Petruzzelli e Sabrina Nardi

Aspettative dei pazienti e importanza di una corretta informazione

Agli avanzamenti della ricerca e alle innovazioni terapeutiche che di essi sono il frutto si guarda con crescente speranza e profondo interesse, specialmente dalla prospettiva dei pazienti affetti da neoplasie ematologiche e dei loro familiari. Soprattutto quando le nuove terapie si rivolgono a persone in uno stato avanzato di malattia, fragili e provate da percorsi di cura lunghi e costellati da continue ricadute di malattia. Per queste persone non esistono alternative terapeutiche, ragion per cui risulta prioritario comprendere la portata delle nuove terapie e promuovere su di esse un'informazione scientificamente validata, completa nel contenuto nonché chiara e semplice nella forma. A beneficio dei pazienti ma anche del grande pubblico.

L'informazione, come nel caso delle terapie a base di cellule CAR-T, è una risorsa primaria nelle mani dei pazienti e dei loro familiari i quali hanno bisogno di apprendere i percorsi che conducono alla diagnosi e le modalità di trattamento disponibili per la loro patologia e, pertanto, si affidano molto (a volte troppo) spesso ad internet. Ogni paziente desidera essere certo di ricevere le migliori cure possibili e ciò significa che le informazioni che può reperire in autonomia - anche a proposito di terapie avanzate come le CAR-T - devono essere condivise con la comunità scientifica, rigorose e facilmente comprensibili ma, soprattutto, non devono alimentare false speranze. Nel contesto dell'informazione scientifica non devono mai trovare spazio né sensazionalismi né facili generalizzazioni. Tutto ciò rimarca la necessità di alimentare il canale di collegamento tra l'informazione e la comunicazione, due sfumature di uno stesso concetto che, purtroppo, in molti casi viaggiano su binari separati. In ambito di salute, prima di comunicare novità che potrebbero incidere pesantemente sullo status psicologico di chi combatte contro una grave malattia, è fondamentale creare un substrato di informazione. Spiegando cos'è uno studio clinico, come funziona, quali sono i principi di sicurezza che devono essere rispettati nella conduzione di un trial o perché un farmaco non sempre è destinato a tutti i malati con una stessa patologia. Perciò, servono divulgatori preparati che rendano le informazioni scientifiche fruibili a chi non abbia il background culturale utile a comprendere a pieno la portata dell'informazione stessa.

L'approdo al mercato delle terapie a base di cellule CAR-T è stato accompagnato da un'aspettativa elevata, essendo state presentate come un'opportunità terapeutica risolutiva per alcune malattie ematologiche, ma con la potenzialità di essere presto estese ad altre patologie - soprattutto i tumori solidi - per le quali ancora oggi

non esiste cura. Pertanto, la cifra di base di tutte le informazioni che le riguardano deve essere quella di una completezza che metta in luce i pro e i contro di un filone terapeutico tanto avanzato e innovativo. Non bisogna correre il rischio di banalizzarne le potenzialità d'uso, trasformandole in una comoda panacea per tutti i mali, ma occorre far comprendere che esse sono solamente la soglia d'ingresso ad una stanza - per certi versi ancora inesplorata - della medicina dove sono conservate possibilità di cura fino a qualche anno fa solo immaginate. La storia della medicina ha insegnato che nella lotta ai tumori non esiste uno strumento unico in grado di risolvere la situazione, non solamente perché il concetto stesso di tumore raccoglie in sé malattie estremamente diverse, ma anche perché strumenti differenti possono essere attentamente impiegati contro una stessa patologia nelle sue diverse fasi di sviluppo, portando alla cronicizzazione della stessa o, meglio ancora, alla guarigione del paziente. Nel caso delle terapie CAR-T occorre essere cauti e trasmettere a chi ha ricevuto una diagnosi di malattia un'informazione trasparente, che renda il paziente stesso protagonista della sua storia di malato e, quindi, maggiormente collaborativo e proattivo nella gestione della malattia e degli effetti collaterali della terapia.

Le necessità dei pazienti e la presa in carico: dalla diagnosi in poi

A partire dal momento della diagnosi, il paziente e la sua famiglia sono catapultati in un mondo sconosciuto che stravolge le loro vite, incutendo preoccupazione e timore, in primo luogo, sotto l'aspetto della salute. Avendo già vissuto un'esperienza di malattia e di cura estremamente faticosa, le persone che possono accedere alle terapie a base di cellule CAR-T confidano in una presa in carico a trecentosessanta gradi, che comprenda non solo gli aspetti clinici e psicologici ma anche quelli più prettamente logistico-organizzativi. Infatti, queste terapie possono essere effettuate solo presso centri specialistici e ciò significa che può rendersi necessario uno spostamento verso una città o una regione diversa da quella di residenza.

L'uso delle CAR-T è attualmente autorizzato in Italia per la leucemia linfoblastica acuta, il tumore più frequente in età pediatrica, e il linfoma diffuso a grandi cellule B. In ogni caso, sia quando si parla di bambini, sia quando si parla di adulti, il familiare deve essere messo nelle condizioni di non perdere contatto con la quotidianità. I genitori devono poter assistere da vicino i figli malati senza mettere a rischio il loro posto di lavoro o la retribuzione. A prescindere dall'età, quando un paziente si sposta dalla sua città molto spesso necessita di un accompagnatore - generalmente un familiare - con un ulteriore aumento delle spese da fronteggiare che includono anche i costi per gli spostamenti e per il soggiorno dei familiari durante il periodo di permanenza nei pressi del centro. A ciò si devono sommare le perdite economiche del "caregiver" il quale, per svolgere il suo compito, deve chiedere al datore di lavoro un periodo di aspettativa non retribuita, oppure si trova obbligato a limitare fortemente, se non addirittura a rinunciare, alla sua attività. Gli oneri economici o le difficoltà logistiche possono, pertanto, rendere più complicata la gestione di questo delicato momento, generando ulteriore preoccupazione e stress o, in ultima analisi, precludendo ad alcuni malati l'opportunità di sottoporsi alle terapie.

Una adeguata presa in carico del paziente implica la possibilità di essere seguito sempre dallo stesso medico, nella stessa struttura, con la famiglia accanto e la comprensione dei datori di lavoro. Al giorno d'oggi si tende a fare un'ottima presa in carico della malattia, ma non bisogna dimenticare di farsi carico delle persone e dei loro bisogni, come quelli elencati sopra. Da più voci è emerso, infatti, che l'effetto collaterale a distanza più spesso segnalato dai pazienti oncologici a lungo sopravvissuti è l'ansia, la quale corrisponde alla medesima sensazione che essi dichiaravano di aver sperimentato nel corso delle cure, a testimonianza del peso esercitato non solo dalla dimensione fisica della malattia, ma anche da quella emozionale e personale. Ecco, dunque, che la presa in carico deve essere prima di tutto della persona, specialmente per terapie come le CAR-T.

Il lavoro delle associazioni

Esistono molte realtà associative, spesso nate sulla base di esperienze di malattia personale o di familiari, che si occupano di seguire i pazienti e si adoperano in mille modi per offrire sostegno al paziente e alla

famiglia oncologica, a partire dal fornire informazioni sulle residenze dove i familiari (genitori, coniugi, etc.) possono soggiornare mentre il proprio caro è ricoverato in ospedale, fino ai servizi di supporto psicologico ai genitori. L'Associazione Italiana contro Leucemie-Linfomi e Mieloma (A.I.L.) mette a disposizione, attraverso le 81 sezioni provinciali, le case accoglienza in oltre 30 province italiane consentendo al paziente e ai suoi familiari di soggiornare nelle immediate vicinanze del centro per tutto il tempo necessario alla terapia. Inoltre, supporta i viaggi e sostiene i nuclei famigliari in difficoltà in caso di mobilità sanitaria, garantisce il supporto psicologico, le cure domiciliari e il trasporto casa-ospedale solo per fare alcuni esempi. A questo si affianca la costante promozione di una corretta informazione, l'attivazione di servizi di consulenza telefonica quotidiana e l'organizzazione dell'attività dei Gruppi pazienti A.I.L. costituiti da pazienti e familiari per garantire non solo confronto e sostegno "tra pari" sempre in crescita, ma anche assicurare l'attività di advocacy.

Oltre a fornire un aiuto diretto alla famiglia, le Associazioni di pazienti intervengono nei processi di organizzazione e sviluppo dei servizi sanitari, individuando le criticità esistenti e supportando proposte migliorative che nascono dall'osservazione del dato reale. È importante evidenziare come le Associazioni debbano essere sempre più considerate una risorsa fondamentale, non solo per colmare le difficoltà del sistema, ma anche per definire una governance dell'innovazione e dei servizi sanitari, così come nella ricerca. E questo ruolo deve riguardare la definizione degli studi clinici, la composizione dei Comitati Etici, la partecipazione alla messa a punto dei consensi informati e delle Linee Guida, la partecipazione alle valutazioni di "Health Technology Assessment" (HTA, o valutazione delle tecnologie sanitarie), la raccolta delle evidenze dei pazienti all'interno dei trial mediante l'uso dei "Patient Reported Outcomes" (PRO) e, ultimo ma non meno importante, lo studio dell'impatto sulla popolazione di percorsi nati dall'accesso all'innovazione. Tutto ciò è, peraltro, previsto da dichiarazioni internazionali e normative europee, nazionali e, in alcuni casi, regionali.

Per questo esiste una collaborazione attiva e reciproca tra le Associazioni e le principali Società Scientifiche, al fine di tracciare un percorso di miglioramento dell'assistenza sanitaria ai pazienti che comprenda anche un'urgenza significativa come quella imposta dalle CAR-T, le quali esigono una profonda riorganizzazione del Servizio Sanitario Nazionale. Ciò significa individuare centri multidisciplinari accreditati, ad alta specificità, capaci di soddisfare requisiti specifici e rispondere a situazioni di emergenza, evitando un contraccolpo negativo nell'accesso ad ulteriori cure necessarie per altri pazienti, ad esempio coloro che affrontano una procedura di trapianto.

Tutto ciò assume particolare valore in questa fase di emergenza sanitaria suscitata dalla diffusione del virus SARS-CoV-2: infatti, l'attuale pandemia ha aiutato a comprendere meglio una lezione importante per la quale non esistono solo il farmaco e le conseguenze da esso prodotte sull'organismo, ma anche un universo individuale che racchiude l'opportunità di tornare al lavoro e alla quotidianità. Ad esempio, la F.A.V.O. (Federazione Italiana delle Associazioni di Volontariato in Oncologia), insieme ai rappresentanti di Società Scientifiche del calibro di AIOM (Associazione Italiana di Oncologia Medica), SICO (Società Italiana di Chirurgia Oncologica), AIRO (Associazione Italiana di Radioterapia e Oncologia Clinica), FNOPI (Federazione Nazionale Ordini Professioni Infermieristiche) e SIPO (Società Italiana di Psico-Oncologia) ha guidato la stesura di un documento congiunto per superare l'emergenza da COVID-19 e favorire il ritorno immediato alla normalità delle cure e al riconoscimento dei diritti dei malati di cancro. Il documento affronta i diversi aspetti e le varie criticità del trattamento, con proposte operative che riguardano i malati oncologici o onco-ematologici. A testimonianza che anche ciò che si è realizzato per far fronte alle situazioni più drammatiche, penose e complesse, può assumere un carattere strutturale e non restare confinato alla sfera emergenziale. Infatti, essere portavoce delle necessità e dei bisogni dei malati significa elevare le Associazioni a interlocutori delle Istituzioni, soprattutto di quelle che operano a livello locale o regionale. Per tale ragione, le Associazioni possono aggregarsi in sottogruppi operativi portatori di un interesse specifico, tra i quali F.A.V.O. Neoplasie Ematologiche o il gruppo F.A.V.O. Tumori Rari.

Ogni aspetto di questa tipologia di lavoro è diverso dall'opera di mero volontariato di natura civica. Infatti, il paziente esperto, (ma più ancora quello consapevole) ha un patrimonio ricchissimo da offrire, a cominciare dalla conoscenza di chi è passato per la malattia e può dare un contributo attivo alla crescita del sistema. Perciò bisogna valorizzare l'esperienza dei malati, aprendo le porte dei processi decisionali - comprese le sperimentazioni cliniche con le cellule CAR-T - ai pazienti esperti e alle Associazioni.

Il coinvolgimento dei pazienti nei processi decisionali

Chi ha vissuto sulla propria pelle una malattia e si impegna nell'ambito del volontariato oncologico è portatore di una competenza pura che non si studia sui libri e che dovrebbe essere considerata come un valore aggiunto e non sostituibile. Purtroppo, non sempre al paziente è attribuito questo livello di considerazione e, per quanto ricco, il suo punto di vista non è adeguatamente valorizzato, specie nelle sedi decisionali dove sarebbe, invece, più richiesto.

Tra i membri dei Comitati Etici che si occupano di valutare l'idoneità dei protocolli delle sperimentazioni cliniche è presente un rappresentante delle Associazioni dei pazienti, ma si tratta di una presenza a valle del processo mentre sarebbe più utile una partecipazione attiva a monte, in fase di disegno dello studio clinico. Ugualmente accade con la rilevazione dei "Patient Reported Outcomes", il cui utilizzo nella pratica quotidiana e nella sperimentazione clinica appare ancora molto limitato. Purtroppo, nelle fasi post-registrative del percorso di approvazione di un farmaco (la cosiddetta Fase IV), quasi mai è preso in considerazione il punto di vista del paziente per la definizione dell'HTA. In ambito regolatorio l'Agenzia Italiana del Farmaco ha promosso gli Open-AIFA, un'iniziativa volta a favorire il dialogo con i pazienti e le Associazioni, ma ancora non ha attivato un tavolo permanente di consultazione con le Associazioni dei pazienti, come previsto dalla normativa della quale le Associazioni hanno sollecitato l'effettiva applicazione.

Ognuno dei punti citati testimonia che appare ancora lunga la strada per una giusta integrazione della rappresentanza dei pazienti nei processi decisionali, all'interno dei quali è bene pensare di introdurre il concetto di sostenibilità, intesa anche come valore di un trattamento. Ciò permetterebbe di effettuare un confronto tra una linea terapeutica e un'altra tenendo conto non solo degli aspetti legati alla salute, o agli effetti collaterali, ma anche dei benefici indiretti di una terapia, corrispondenti a tempi di ospedalizzazione più bassi e, quindi, meno aggravati per il SSN ed anche per il sistema di welfare e di quello produttivo. I pazienti dovrebbero trascorrere meno tempo nelle strutture ospedaliere e più tempo a casa, ma ciò significa disporre di strutture sul territorio pronte ed efficienti, dotate degli strumenti giusti per seguire in maniera efficace anche i pazienti in "follow-up", rinforzando il rapporto tra il medico di medicina generale e lo specialista. Tuttavia, per consolidare l'edificio dell'integrazione dei pazienti nei processi relativi alla loro stessa cura e gestione, occorre far sedere tutte le figure coinvolte intorno al tavolo e lavorare al benessere dei malati senza alcun personalismo. Pronti, laddove fosse necessario, anche a smontare le proprie certezze in funzione di una prospettiva nuova, più utile e vantaggiosa per tutti.

Bibliografia

- A.I.L. – Associazione Italiana contro Leucemie Linfomi e Mieloma. Disponibile a: <https://www.ail.it>
- F.A.V.O. – Federazione Italiana delle Associazioni di Volontariato in Oncologia. Disponibile a: <https://www.favo.it>
- AIFA – Agenzia Italiana del Farmaco. Disponibile a: <https://www.aifa.gov.it>

Capitolo 11



2020-2030: IL FUTURO DELLE CAR-T TRA SFIDE E OPPORTUNITÀ

Franco Locatelli e Martina Pennisi

L'impatto dell'emergenza COVID-19 sulle terapie CAR-T, dai trial clinici all'accesso ai pazienti

Con l'esplosiva diffusione del virus SARS-CoV-2 la pandemia si è abbattuta in maniera drammatica sulla popolazione mondiale, falciando l'esistenza di migliaia di persone e costringendone milioni di altre a rivolgersi agli istituti ospedalieri, provocando quell'aumento esponenziale dei ricoveri che ha messo in ginocchio i sistemi sanitari di tanti Paesi del mondo. Tuttavia, le conseguenze del rapido diffondersi del COVID-19 non si misurano solamente in termini di persone contagiate o decedute a causa della nuova patologia, ma anche in base all'impatto provocato sugli altri malati. Infatti, secondo quanto dichiarato dalla Società Italiana di Cardiologia (SIC), la mortalità per infarto è triplicata rispetto al 2019 poiché molti individui, spaventati all'idea di accedere negli ospedali, hanno ritardato l'arrivo in pronto soccorso cosicché le condizioni di salute al momento del ricovero erano talmente gravi da non poter fare nulla per salvare loro la vita. Anche i principali programmi di screening oncologico hanno subito una brutta battuta d'arresto in seguito alla diffusione del nuovo Coronavirus. Questo deve indubbiamente far riflettere sulle ripercussioni che ciò ha avuto - e ancora sta avendo - sui malati oncologici, tra i quali figurano coloro che sono affetti da forme di leucemia linfoblastica acuta a grandi cellule B recidivanti, o refrattarie alla terapia, o dai grandi linfomi a cellule B resistenti al trattamento. Per costoro le terapie a base di cellule CAR-T costituiscono la sola opportunità terapeutica; eppure, l'emergenza COVID-19 non ha risparmiato neppure questi rivoluzionari trattamenti, la cui produzione si snoda attraverso fasi estremamente delicate, colpendo sia l'universo della ricerca che dell'applicazione in clinica. In linea generale ciò ha sostanzialmente determinato un rallentamento nello sviluppo della progettualità e nell'attivazione di studi clinici sulle cellule CAR-T.

A livello globale, il numero di officine deputate alla produzione delle cellule CAR-T è piuttosto contenuto e alcune di queste hanno dovuto ridurre il personale in presenza, prediligendo la modalità di lavoro da remoto, con delle ovvie ricadute sui programmi di ricerca. Ciò ha posto in evidenza la necessità per il futuro di individuare nuovi siti di produzione logisticamente ben collegati con i centri ospedalieri di riferimento. Infatti, il blocco dei voli - anche di quelli commerciali - tra i diversi Paesi imposto per calmierare l'aumento dei contagi avrebbe potuto avere esiti devastanti sull'erogazione delle terapie CAR-T. Queste hanno una finestra temporale di preparazione limitata, poiché le cellule necessarie devono essere prelevate dal paziente, lavorate e restituite in uno stretto

arco di tempo. Mediamente, la durata del processo di ingegnerizzazione, dal momento del prelievo fino alla re-infusione nel paziente, è di circa un mese, periodo nel quale le precarie condizioni di salute dei pazienti stessi possono cambiare. Infatti, l'aggressività della loro patologia è una variante che influisce sulle possibilità di somministrazione e sull'efficacia della terapia CAR-T.

Il blocco dei voli avrebbe potuto provocare rallentamenti nella catena di produzione delle CAR-T, pertanto, le principali aziende produttrici si sono attivate mettendo in atto strategie di trasporto alternative, con la pianificazione di voli speciali per portare il prodotto finito direttamente al letto del paziente, in modo da garantire la continuità terapeutica. È stato questo il caso di un bambino di due anni, affetto da linfocitocitosi emofagocitica primaria, per il quale lo scorso 1° aprile - nel pieno dell'emergenza COVID-19 - si era reso necessario un trapianto di cellule staminali ematopoietiche. Grazie ad un volo speciale del 31° Stormo dell'Aeronautica Militare, le cellule sono state trasportate dalla Turchia, dove si trovava il donatore, all'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma presso cui era ricoverato il bambino. Come testimonia questa storia intrisa di solide collaborazioni a livello internazionale, l'impatto della pandemia COVID-19 non ha impedito ai pazienti dell'ospedale romano di ricevere le terapie, giacché tutti i bambini affetti da linfomi o leucemia che avevano indicazioni e necessità delle terapie base di cellule CAR-T sono stati opportunamente trattati; alcuni di loro all'interno degli studi clinici, altri con prodotti commercialmente già disponibili. L'officina italiana in attività presso l'Ospedale Bambino Gesù a Roma ha proseguito le consuete attività di preparazione delle cellule da utilizzare nell'ambito dei trial accademici approvati in precedenza, sia per la leucemia linfoblastica acuta che per il neuroblastoma, senza che l'interruzione dei trasporti abbia potuto incidere sui tempi di attesa.

Purtroppo, la realtà del lockdown ha contribuito a delineare un quadro significativamente differenziato nei diversi centri nazionali, tanto che alcuni istituti hanno lamentato criticità tutt'altro che trascurabili nell'erogazione delle terapie avanzate, come quelle a base di CAR-T. Per ovviare al problema e gestire al meglio la presa in carico dei pazienti in alcuni ospedali oncologici sono stati creati percorsi ad hoc per le persone affette da COVID-19 e molti ospedali sono stati riconvertiti a centri adibiti esclusivamente al trattamento dei malati di COVID-19, in modo tale da contenere il più possibile la diffusione dell'infezione e far sì che tutti gli altri malati potessero proseguire la somministrazione delle terapie non differibili.

Per quello che riguarda i pazienti ematologici in generale ma, in modo particolare, coloro che erano destinati alle terapie a base di cellule CAR-T, l'esperienza clinica e i dati a disposizione hanno suggerito di effettuare una selezione in base a criteri quali l'età avanzata - è bene ricordare che, al momento, in Italia le terapie CAR-T non vengono somministrate a pazienti al di sopra dei 70 anni - la presenza di comorbidità e il performance status⁹, al fine di individuare coloro in cui la terapia potesse produrre risultati soddisfacenti e duraturi, con un minor rischio di eventi avversi. I trattamenti a base di CAR-T, infatti, sono destinati a pazienti altrimenti privi di alternative terapeutiche efficaci e, secondo i risultati degli studi clinici in cui sono stati testati, hanno prodotto sopravvivenze libere da malattia a due anni dell'ordine del 30-40% in malati in cui la sopravvivenza stimata era inferiore ai sei mesi. Tuttavia, le eventuali tossicità ad essi associate rendono estremamente pericolosa l'erogazione del trattamento in mancanza della possibilità di un eventuale ricovero presso un'unità di terapia intensiva per la gestione delle complicanze. I mesi più duri della pandemia da COVID-19 hanno visto un'impennata dei ricoveri nelle terapie intensive dei diversi ospedali d'Italia rendendo dunque necessario operare un'accurata selezione dei pazienti a minor rischio di andare incontro a gravi complicanze. Perciò ai malati in età più avanzata, oppure con una quota di malattia più significativa, tale da far presumere una bassa probabilità di efficacia della terapia CAR T, o ancora con maggiori comorbidità o con un performance status non adeguato, sono state somministrate, laddove possibile, terapie a scopo contenitivo, in attesa di un miglioramento dello stato della pandemia. Purtroppo, tanti malati in quel lasso di tempo hanno perso definitivamente la possibilità di accesso a questo trattamento. È stato necessario formulare una bilancia decisionale con la quale misurare i benefici per il paziente contro i rischi di un trattamento non scevro da effetti collaterali in stato di emergenza, senza trascurare ovviamente lo stato generale di salute del paziente stesso. Infine, va sottolineato che le principali

⁹ Espressione che indica le condizioni di salute globali del paziente. Il performance status si misura ricorrendo a scale di punteggio come la ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group).

aziende produttrici non hanno interrotto i loro studi clinici su questo nuovo fronte di ricerca, ma è stata comunque osservata una riduzione dei ritmi di arruolamento o delle visite di monitoraggio in presenza. Questo è dovuto al fatto che i pazienti che rispondono ai criteri di arruolamento sono generalmente persone vulnerabili e malate, il loro ingresso presso i poli ospedalieri nei momenti più bui e difficili di questa pandemia avrebbe potuto seriamente compromettere le loro stesse probabilità di sopravvivenza.

Lo studio di nuove strategie per future CAR-T più efficaci e per un numero crescente di patologie

Le terapie a base di cellule CAR-T costituiscono una forma di trattamento senza precedenti nella storia della medicina e proiettano medici, ricercatori e pazienti in un domani fatto di speranza e possibilità. Tuttavia, sarebbe un errore considerarle un punto di arrivo anziché un nuovo inizio, dal momento che esse si prestano a una costante opera di miglioramento. O meglio - visto che il materiale di partenza da cui sono tratte è costituito da cellule vive - di evoluzione.

Ben oltre gli ostacoli del presente, il futuro delle terapie CAR-T si espande e prende forma all'interno di due grandi ambiti di studio, con la prospettiva di una prossima traslazione clinica. Il primo è quello che prevede di dare avvio a programmi pre-clinici e clinici su piattaforme cellulari che sfruttino un approccio differente da quello basato in via esclusiva sui linfociti T. Infatti, il rovescio della medaglia delle cellule CAR-T è rappresentato dagli effetti collaterali, come la sindrome da rilascio delle citochine e la tossicità neurologica, che diversi pazienti sperimentano dopo la somministrazione. Inoltre, esiste una proporzione di pazienti in cui le CAR-T non funzionano in maniera efficiente o non si mantengono nel tempo per cui sperimentano ricadute di malattia anche dopo il trattamento. Questo si osserva, ad esempio, nell'ambito delle leucemie linfoblastiche acute in cui più del 70% dei pazienti va incontro alla perdita dell'antigene della cellula tumorale oggetto di aggressione da parte del recettore sintetico CAR. Oppure, nei pazienti con un carico di malattia importante in cui si osserva una reazione non trascurabile sotto forma della sindrome da rilascio delle citochine o di neurotossicità. Per questo, molti gruppi di ricerca nel mondo sono attivamente impegnati nello studio della possibilità di estendere la medesima filosofia delle cellule CAR (oggi applicata ai linfociti T) anche ad altre cellule del sistema immunitario. Tra queste ci sono le cellule CIK (Cytokine Induced Killer) e, ancor più, le cellule Natural Killer (NK) le quali, oltre a mostrare un profilo di sicurezza più solido, con una modalità d'azione che si connota per una minor produzione di citochine infiammatorie, annoverano il vantaggio di non sollevare problemi di istocompatibilità, potendo essere ottenute da un donatore terzo. In tal senso, esse fanno da apripista alla produzione di una nuova linea di cellule allogeniche a partire da un unico donatore e fruibili da pazienti diversi, permettendo così di abbassare i tempi e, ancor più, i costi di produzione. Si parla in questo caso di cellule "off the shelf", ovvero pronte per l'uso.

Altri approcci di ricerca sono basati su popolazioni cellulari più difficili da isolare e generare - come le MAIT cells (Mucosal Associated Invariant T cells) - oppure coinvolgono popolazioni cellulari che potrebbero rivelarsi utili nell'aggressione dei tumori solidi. In quest'ultimo caso il riferimento è alle CAR-M che prevedono l'ingegnerizzazione dei macrofagi e permettono di introdurre il secondo ambito di studio che per i prossimi anni impegnerà molti ricercatori. Questo è fondato sullo sviluppo di terapie CAR che aggrediscano bersagli molecolari diversi dall'antigene CD19 espresso sulla superficie delle cellule B di alcune leucemie linfoblastiche acute e nei linfomi a grandi cellule B. Infatti, nella lotta ai tumori solidi la varietà antigenica messa in mostra sulle superficie delle cellule cancerose esige la realizzazione di un'arma capace di colpire bersagli diversi. Esempi di questo filone di ricerca includono la generazione di cellule CAR dirette contro l'antigene CD22, una molecola espressa sulla superficie delle cellule linfoidi maligne, oppure attraverso la generazione dei cosiddetti costrutti bi-specifici con un antigene sintetico CAR capace di aggredire simultaneamente non uno bensì due bersagli, come CD19 e CD22. Un ulteriore esempio della necessità di cercare nuovi obiettivi cellulari per queste terapie avanzate è dato da uno studio di pre-clinica eseguito presso i laboratori dell'Ospedale Bambino Gesù su un costrutto di terza generazione (formato da due domini costimolatori che prendono a bersaglio l'antigene CD30) che si spera possa essere impiegato contro alcune forme di linfoma di Hodgkin, nei linfomi a grandi cellule anaplastiche e, in prospettiva, anche dei tumori embrionali del testicolo che esprimono l'antigene CD30 sulla superficie degli elementi neoplastici.

Per quel che riguarda i tumori solidi è opportuno ricordare l'elevato numero di bambini affetti da forme di

neuroblastoma refrattarie o resistenti alle terapie, o di quelli con forme di nuova diagnosi, ma ad alto rischio di fallimento terapeutico, trattati con successo grazie alle cellule CAR-T. Il neuroblastoma si è rivelato, infatti, un modello pediatrico insostituibile, fornendo ai ricercatori dati largamente incoraggianti e supportivi di ulteriori investimenti in questo ambito. Parallelamente, la ricerca sta guardando ai sarcomi dell'osso, e in particolare al sarcoma di Ewing, producendo dati promettenti sui primi pazienti trattati con un prodotto cellulare che aggredisce la molecola CD2. Infine, il programma CAR-T sta affrontando la grande sfida dei tumori solidi dell'adulto, rivolgendosi ai carcinomi del colon metastatici o ai tumori del pancreas, ma anche ai tumori solidi del sistema nervoso centrale, con il glioblastoma multiforme su tutti e i gliomi diffusi della linea mediana che hanno una prognosi ancora oggi impegnativa e spesso infausta.

Ognuno di questi campi di lavoro rappresenta un esempio delle prospettive più concrete per da un lato avere a disposizione piattaforme cellulari alternative, dall'altro identificare approcci di aggressione combinata diretti verso antigeni diversi (e quindi utili contro i tumori solidi). È pertanto fondamentale che la ricerca prosegua in questa direzione, riuscendo anche a superare quelle limitazioni che gravano ancora oggi sull'approccio con le cellule CAR-T.

L'impegno italiano nella ricerca in ambito CAR-T

Il Piano CAR-T Italia, approvato dal Governo con un finanziamento di 10 milioni di euro, è un progetto di ricerca pre-clinico nato con l'obiettivo di mettere a fattore comune tutti coloro che si occupano di cellule CAR-T nel Paese, e rappresenta una preziosa opportunità di sviluppare interazioni e collaborazioni virtuose con il mondo industriale. Tra gli istituti coinvolti ci sono centri di eccellenza dislocati sull'intero territorio nazionale tra cui figurano l'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma, l'Istituto San Raffaele di Milano, il Policlinico Gemelli di Roma, la Clinica Pediatrica della Fondazione Tettamanti di Monza, l'Istituto Oncologico del Veneto di Padova, l'Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori di Meldola, la Fondazione del Piemonte per l'Oncologia di Candiolo, l'Ospedale "Papa Giovanni XXIII" di Bergamo ma anche l'Istituto Europeo di Oncologia di Milano, l'Istituto Humanitas di Milano, l'istituto Regina Elena di Roma, il Centro di Riferimento Oncologico di Aviano, la Casa di Sollievo della Sofferenza di San Giovanni Rotondo e l'Istituto Pascale di Napoli. Ad essi si è recentemente aggiunto un nuovo Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS) quale il Policlinico Sant'Orsola di Bologna, con un proprio programma di ricerca ad ampio respiro che allunga così la lista delle eccellenze italiane. Al fianco di questi grandi poli accademici figurano più di undici aziende private che hanno deciso di aderire al piano CAR-T Italia, allo scopo di definire i processi produttivi e i relativi costi di generazione delle CAR-T, identificare nuovi bersagli terapeutici per le CAR-T di futura realizzazione e favorirne lo sviluppo a cominciare dagli studi-preclinici e, infine, migliorare il profilo di sicurezza delle CAR-T stesse.

In quest'ottica, l'osmosi tra il settore pubblico e quello privato si potrebbe rivelare la chiave di volta per andare incontro al futuro di terapie avanzate come quelle che sfruttano le cellule CAR-T. Per i pazienti è un bene avere a disposizione prodotti frutto di ricerche innovative e disponibili in commercio e, allo stesso tempo, sapere che sono ai blocchi di partenza nuovi studi clinici accademici che potrebbero estendere ulteriormente le indicazioni mediche. Tutto ciò non deve esser banalmente inquadrato come una contrapposizione tra filoni terapeutici diversi ma serve, invece, a far comprendere quale sia il valore della complementarietà di tali nuovi approcci al malato. L'auspicio, infatti, è che anche nel nostro Paese sia proposto con sempre maggiore convinzione e adottato con entusiasmo un modello di collaborazione "win-win"¹⁰ tra istituzioni accademiche e aziende farmaceutiche. Analogamente a quanto si è già verificato negli Stati Uniti dove le grandi istituzioni accademiche, tra cui l'Università della Pennsylvania, il Baylor College of Medicine di Houston, il Memorial Sloan Kettering Cancer Center di New York o il Cancer Center di Seattle, hanno sviluppato rapporti di partnership privilegiati con l'industria farmaceutica. Bisogna lavorare perché un simile modello di lavoro prenda corso anche in Italia dove esistono tutte le condizioni per poterlo realizzare. Una maggiore attenzione deve essere prestata in questa

¹⁰ Una strategia che in economia o negli ambienti del marketing si riferisce a una contesa nella quale entrambe le parti si considerano soddisfatte.

direzione in primis dalle istituzioni accademiche, che devono mostrarsi aperte a questo tipo di iniziative, ma anche dalle grandi aziende che investono nel settore delle CAR-T e che devono poter guardare oltre i confini americani per programmi di collaborazione e partnership. Il livello di eccellenza dei ricercatori e dei clinici e il profondo background culturale in termini di immunoterapia contro il cancro hanno fatto di Paesi come l'Italia un mercato unico e di eccellenza per la commercializzazione di prodotti basati sulla tecnologia CAR-T che deve essere adeguatamente sfruttato.

Per i prossimi dieci anni, le aspettative per le terapie avanzate e, più in particolare per le terapie a base di cellule CAR-T, sono molto elevate. Infatti, sia la terapia genica che le tecniche di editing del genoma stanno ottenendo risultati impensabili fino a pochi anni fa, con una prospettiva di estremo interesse non solo nell'ambito delle immunodeficienze ma anche delle malattie nelle quali l'approccio risulta più problematico, come le emoglobinopatie e molte forme tumorali. La strada delle terapie con cellule somatiche ingegnerizzate, sia per correggere difetti genetici sia per colpire specifici bersagli tumorali (come avviene con le cellule CAR) è ormai largamente tracciata e tutti, medici e pazienti, si attendono dagli anni a venire importanti risultati capaci di spingerci oltre la dimensione oggi raggiunta con successo nel contesto delle neoplasie linfocitarie.

Bibliografia

- Guercio M. et al. CD28.OX40 co-stimulatory combination is associated with long in vivo persistence and high activity of CAR.CD30 T-cells. *Haematologica*, 2020. Published Ahead of Print on May 7, 2020, as doi:10.3324/haematol.2019.231183

APPROFONDIMENTO TECNICO

I DATI DEGLI STUDI CLINICI SULLE CAR-T

LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA PEDIATRICA

A cura di Franca Fagioli

I dati sull'efficacia

Oggi è disponibile - approvata sia negli Stati Uniti che in Europa, compresa l'Italia - una terapia CAR-T anti CD-19, sviluppata dall'industria farmaceutica per pazienti pediatrici e giovani adulti con leucemia linfoblastica acuta (LLA) a cellule B che non hanno risposto o che hanno presentato almeno due recidive dopo il trattamento iniziale. Nei pazienti pediatrici (75 bambini) e giovani adulti con LLA plurirecidivata/refrattaria - il 60% dei quali già sottoposto ad almeno un trapianto di cellule staminali ematopoietiche - la terapia CAR-T ha ottenuto un tasso di remissione globale dell'81%, e una sopravvivenza globale del 76% a 12 mesi dall'infusione del farmaco. Dei pazienti trattati con CAR-T solo il 50% sopravvive senza eventi dopo un anno dal trattamento.

In tutti gli studi fino ad ora condotti è stato dimostrato che il ricorso al trapianto allogenico di cellule staminali riduce il rischio di ricaduta di malattia se preceduto dall'utilizzo di terapia CAR-T, in quanto questo porta ad un miglior controllo di malattia in termini di "Malattia Minima Residua" (MMR) e, pertanto, migliora la sopravvivenza dei pazienti successivamente sottoposti a trapianto. L'ipotesi è quindi che le terapie CAR-T possano essere usate come ultimo atto terapeutico - senza esporre i pazienti alla tossicità del regime di condizionamento del trapianto - o essere usate come ponte al trapianto.

I dati sulla sicurezza

Le principali e più gravi tossicità emerse in corso di trattamento con CAR-T - la sindrome da rilascio delle citochine e gli eventi di tipo neurologico - sono stati ritenuti accettabili in una popolazione pesantemente pretrattata e senza alternative terapeutiche con finalità curativa. Oggi, inoltre, i dati sono favorevoli anche in questi termini, in parte perché si tratta di eventi avversi attesi, in parte perché i clinici dispongono, sin da subito in reparto, di farmaci come il tocilizumab in grado di bloccare la CRS.

L'utilizzo di prodotti cellulari che si avvalgono della tecnologia CAR deve comunque necessariamente avvenire in

centri accuratamente selezionati (centri prescrittori), che da una parte siano in possesso di un'infrastruttura adatta all'intero percorso - dalla raccolta dei linfociti del paziente alla successiva conservazione ed infusione in sicurezza del prodotto biologico - e dall'altra possano garantire l'adeguata assistenza medico-infermieristica necessaria per la gestione degli eventi avversi che si possono verificare.

I LINFOMI

A cura di Paolo Corradini

I dati sulla sopravvivenza per DLBCL e PMBCL

I dati che hanno portato all'approvazione delle due CAR-T axicabtagene ciloleucel (axi-cel) e tisagenlecleucel (tisa-cel) derivano da due studi clinici di Fase II, ZUMA-1 e JULIET. Questi hanno dimostrato la remissione completa della malattia nella popolazione di pazienti affetti da linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL) e da linfoma primitivo del mediastino a cellule B (PMBCL), nel primo, e solo da DLBCL, nel secondo.

In particolare, nello studio multicentrico ZUMA-1, condotto da Gilead, 111 pazienti affetti da DLBCL e PMBCL, ricaduti o refrattari dopo 2 linee di terapia e/o ricaduti entro 12 mesi dall'autotrapianto, sono stati arruolati e 101 hanno ricevuto l'infusione di axi-cel, in media dopo 17 giorni dalla leucaferesi. Di questi, l'83% ha risposto al trattamento e il 58% ha ottenuto una remissione completa della malattia, con una risposta associata ai livelli di espansione cellulare (5,4 volte maggiore nei pazienti "responder", rispetto ai "non responder"). Complessivamente, la durata mediana della migliore risposta è stata di 11 mesi e la mediana di progressione libera da malattia (Progression Free Survival, PFS) di 5,9 mesi. Per i pazienti in remissione completa e remissione parziale a 3 mesi, invece, la PFS stimata a 2 anni è risultata del 72% e 75%, rispettivamente. Dopo un follow-up mediano di 27,1 mesi, il 39% dei pazienti ha mantenuto la risposta, e il 37% ha mantenuto la remissione completa, suggerendo l'ipotesi di guarigione. Complessivamente, la mediana di sopravvivenza globale (OS, Overall Survival) non è stata raggiunta a 2 anni e l'OS stimata a 2 anni è stata del 50.5%.

Lo studio JULIET invece, condotto da Novartis, ha testato l'efficacia e la sicurezza di tisa-cel in 165 pazienti con DLBCL ricaduti o refrattari alle due linee di trattamento o non eleggibili a trapianto autologo, di cui 111 hanno ricevuto l'infusione. Il 52% dei pazienti ha risposto al trattamento, con il 40% di remissione completa e il 12% di remissione parziale. Complessivamente, il tasso stimato di PFS è stato dell'83% a 1 anno nei pazienti che a 3 mesi avevano ottenuto risposta completa o parziale, e l'OS stimato a 1 anno è stato del 90% nei pazienti che hanno ottenuto la remissione completa. Le risposte sono state mantenute fino a 18,4 mesi dall'infusione, con circa il 35% che ha mantenuto la risposta dopo 12 mesi dal trattamento, con evidenza di prolungata persistenza delle cellule CAR-T anche fino a 2 anni dall'infusione.

Dati di "real world"- ovvero i dati raccolti nelle circostanze di vita reale, al di fuori del contesto degli studi clinici - hanno confermato i risultati incoraggianti dei trial clinici, aprendo però anche alla possibilità di allargare la popolazione di pazienti che possono beneficiare delle terapie CAR-T. In particolare, uno studio retrospettivo "real world", condotto su 295 pazienti trattati con axi-cel, ha portato a tassi di risposte globali dell'81%, con 57% di remissione completa e 37% di conversioni da remissione parziale a remissione completa a 3 mesi. Con la differenza, però, che i pazienti trattati nella pratica clinica e arruolati nello studio retrospettivo "real world" difficilmente avrebbero soddisfatto i criteri di arruolamento del protocollo clinico ZUMA-1, nel 49% dei casi. Osservazioni che potrebbero essere prese in considerazione per un'estensione del trattamento anche a popolazioni convenzionalmente considerate a rischio ed escluse dagli studi clinici.

I dati sulla sicurezza per DLBCL e PMBCL

Un limite delle terapie CAR-T è tuttora rappresentato da alcuni eventi avversi seri, come la sindrome da rilascio delle citochine, che può dare origine a reazioni anche molto violente dell'organismo che possono essere gestite

efficacemente quando i pazienti sono seguiti in centri con grande esperienza clinica, e la neurotossicità. La riduzione del rischio di insorgenza di questi eventi avversi è oggi oggetto della ricerca scientifica. Dagli studi clinici è emerso che l' 11-47% dei casi di CRS è grave (grado 3-4), a seconda del tipo di terapia CAR-T e di malattia. Nell'80% dei casi si risolve anche grazie a farmaci anti interleuchina (anti-IL-6), senza andare in rianimazione.

La neurotossicità, invece, consiste in una diffusione passiva di citochine e di cellule immunitarie nel sistema nervoso centrale. Negli studi ha mostrato una prevalenza del 5-30%. In entrambi gli studi clinici ZUMA-1 e JULIET si sono verificati sindrome da rilascio delle citochine e neurotossicità, rispettivamente nel 93% (grado +3 nell'11%) e 67% dei pazienti arruolati nello studio ZUMA-1 e rispettivamente nel 58% e 33% nello studio JULIET. Gli altri eventi avversi frequentemente riportati nei due trial sono stati neutropenia, anemia, piastrinopenia e infine le infezioni con un'incidenza simile alle altre chemio di salvataggio. La selezione appropriata dei pazienti per questo tipo di terapia sarà un punto di grande importanza. Prima di tutto perché aumenta la percentuale di risposta della malattia a questo trattamento. Poi perché ne riduce le tossicità gravi e, infine, perché garantisce un uso appropriato delle risorse di un farmaco costoso.

I dati di sopravvivenza e sicurezza per il linfoma mantellare classico

Il 24 luglio 2020 la Food and Drug Administration (FDA) statunitense ha approvato brexucabtagene autoleucl (nome commerciale Tecartus), terapia a base di cellule CAR-T sviluppata da Kite Pharma, indicata per le forme recidivanti o refrattarie di MCL. Brexucabtagene autoleucl è costituito da un CAR specifico per il CD19 e utilizza il vettore virale gammaretrovirus.

L'approvazione negli Stati Uniti si basa sui risultati dello studio clinico di Fase II, ZUMA-2 condotto su 74 pazienti adulti affetti da MCL recidivante o refrattaria alla chemioterapia con antraciclina o bendamustina e al trattamento con anticorpi anti-CD20 e inibitori della tirosin-chinasi del BTK (ibrutinib or acalabrutinib). Sessanta pazienti hanno ricevuto una singola infusione di brexucabtagene autoleucl e sono stati seguiti per almeno sei mesi dopo la loro prima risposta obiettiva alla malattia, qualificandoli come valutabili in termini di efficacia. Di questi l'87% ha risposto positivamente all'infusione di brexucabtagene autoleucl (risposta obiettiva), il 62% ha avuto una remissione completa e il 25% una remissione parziale. Per quanto riguarda la sicurezza, il 18% dei pazienti ha manifestato una sindrome da rilascio di citochine di grado 3 o superiore, e il 37% eventi avversi di natura neurologica di grado 3 o superiore.

Principali acronimi

ADA-SCID: Adenosine Deaminase Severe Combined ImmunoDeficiency

ALL: Acute Lymphocytic Leukemia

AIFA: Agenzia Italiana del Farmaco

ATMP: Advanced Therapeutic Medicinal Products

CAR-T: Chimeric Antigen Receptor T-cells

CAT: Committee for Advanced Therapies

CHMP: Committee for Medicinal Products for Human Use

CIK: Cytokine Induced Killer

COMP: Committee for Orphan Medicinal Products

CRS: Cytokine Release Syndrome

CTLA-4: Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4

DLBCL: Diffuse Large B-cell Lymphoma

EFS: Event Free Survival

EMA: European Medicines Agency

FDA: Food and Drug Administration

GMP: Good Manufacturing Practice

HSCT: Hematopoietic Stem Cell Transplantation

ICANS: Immune Effector Cells Associated Neurotoxicity Syndrome

iPSC: induced Pluripotent Stem Cells

JACIE: Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT

MCL: Mantle Cell Lymphoma

MA: Marketing Authorization

MAA: Marketing Authorization Application

NK: Natural Killer (cells)

OS: Overall Survival

PDCO: Pediatric Committee

PFS: Progression Free Survival

PMBCL: Primary Mediastinal B-Cell Lymphoma

PRIME: PRiority Medicines

PRO: Patient Reported Outcomes

SAE: Serious Adverse Event

SCID: Severe Combined ImmunoDeficiency

SSN: Servizio Sanitario Nazionale

TAM: Tumor-Associated Macrophage



 **CELL THERAPY**
OPEN SOURCE