

Anti-GD2 en IL-2 bij behandeling van neuroblastoma

Geneviève Laureys
 Pediatrie Hematologie, Oncologie en Stamceltransplantatie, UZ Gent

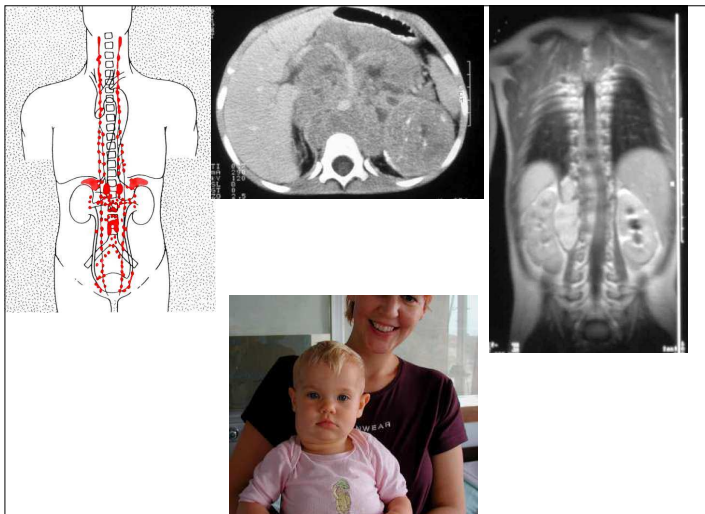
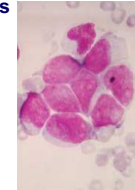
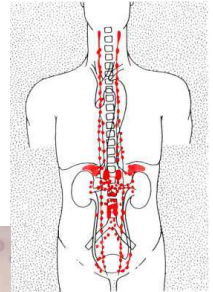
19 november 2011, VVRO

Neuroblastoom:

- per jaar: 1.2 / 100 000 kinderen < 15 jaar
- België: ~ 15 tot 20 nieuwe patiënten per jaar
- 90% is <10 jaar bij diagnose
- gemiddelde leeftijd is 2.5 tot 3 jaar
- extreem zeldzaam bij volwassenen
- 8% van kwaadaardige aandoeningen bij kinderen
- meest frequente maligniteit bij kinderen <1 j



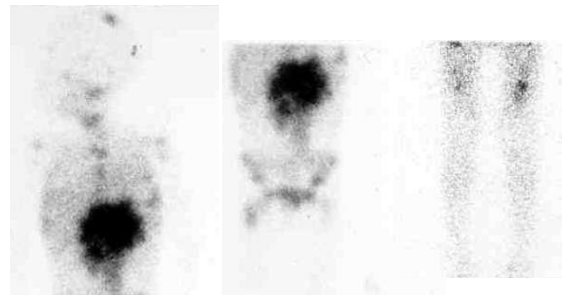
- beschreven door Virchow in 1864
- ontstaat in voorlopercellen van (ortho)sympathisch zenuwstelsel
- symptomen: afhankelijk van lokalisatie metastasering (beenmerg, bot, lever, huid) excretie catecholamines groei in ruggenmerg



Diagnose en staging:

Beeldvorming, mIBG-scan: detectie van tumor en metastasen beenmerg/botboor

24 uren urine: catecholamine excretie



Diagnose en staging:

Biopsie: genetische kenmerken van tumorcel zijn prognostisch belangrijk

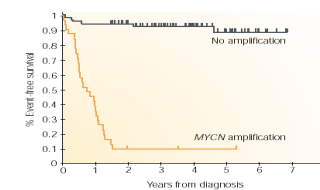
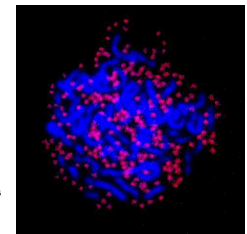


Figure 2 | Survival of infants with metastatic neuroblastoma based on MYCN status. A Kaplan-Meier survival curve of infants less than 1 year of age with metastatic neuroblastoma who were treated in a recent study¹⁸. The 3-year event-free survival (EFS) of infants whose tumours lacked MYCN amplification was 93%, whereas those with tumours that had MYCN amplification had only a 10% EFS.

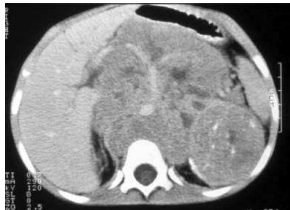
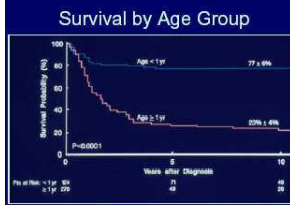


FISH experiment: aantonen MYCN amplificatie, hybridisatie met probe voor MYCN oncogen, normaal 2 kopijen per cel, hier 100 tal

prognose



- Genetische kenmerken
- Leeftijd
- IDF: Image defined risk factors
- Stadium
- Histologie



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

Stadium 4S nu volgens INRG Ms
 INRG: International Neuroblastoma Risk Groups



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

Stadium 4S, Ms INRG



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

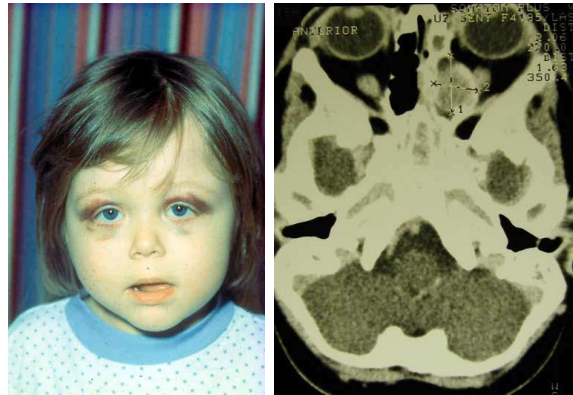


Deze jongen hier 1 jaar is nu 13 jaar en heeft geen sekwellen

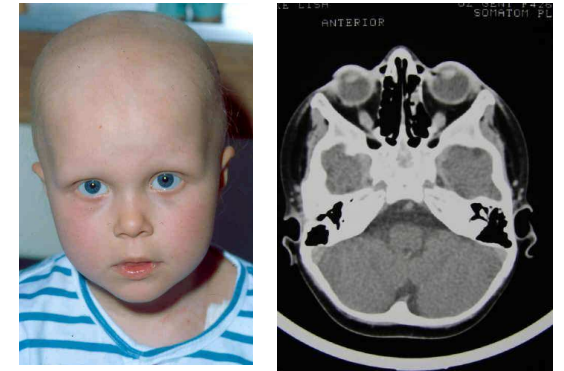


© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

Stadium 4



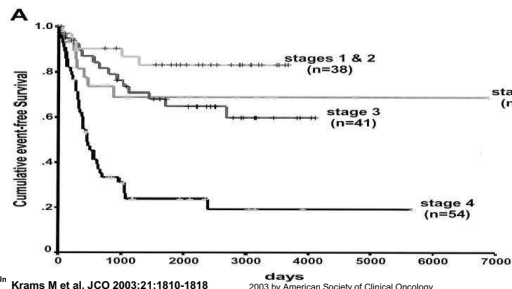
© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

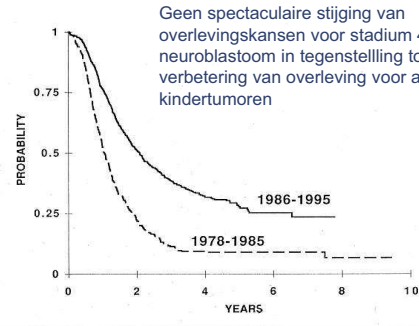
na chemotherapie

Univariate Kaplan-Meier analysis of event-free survival with stratification on International Neuroblastoma Staging System stage



© 2008 UH Krams M et al. JCO 2003;21:1810-1818 2003 by American Society of Clinical Oncology

Geen spectaculaire stijging van overlevingskansen voor stadium 4 neuroblastoom in tegenstelling tot verbetering van overleving voor andere kindertumoren



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY

Figure 3: Historical comparison of survival for children with stage 4 neuroblastoma over 1 year at diagnosis treated on CCG protocols from 1978-1985 vs 1986-1995 (P = .001)

SIOPEN: groep werd opgericht

SIOP: International Society of Pediatric Oncology

EN: European Neuroblastoma group

Neuroblastoom is zeldzame tumor, doelstelling van SIOPEN: opstellen van gemeenschappelijke Europese protocollen om te komen tot betere behandelingen en meer kennis over de ziekte, etiologie, prognostische factoren.



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

SIOPEN studies:

- **LNESG-1** : Low stage neuroblastoma, European Study group: closed, **LNESG-2**: open
- **INES**: Infant Neuroblastoma European Study
- **Stage 2 and 3 unresectable**: closed
- **HR-NBL1**: open -> HR-NBL1.5

Start binnenkort:

➤ **LINES**: Low and Intermediate Neuroblastoma European Study : verschillende risicogroepen en treatment groepen

➤ **OMS**: OpsoMyoclonus study

Later: Studie voor ptn met resistente ziekte



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

HR-NBL-1: Start november 2001

Vraagstellingen:

R1: hypothese myeloablatieve therapie (conditionering voor autologe stamceltransplantatie of MAT, megatherapie) met busulphan en melphalan (BUMEL, Europees) bij patienten met hoog risico neuroblastoom (stage 4 disease ouder dan 1 jaar en stadia 2 en 3 met *MycN* amplificatie) zal leiden tot betere 3-jaar event free survival dan MAT met carboplatin, etoposide and melphalan (CEM, Amerikaans).

R0: G-CSF: Leidt toediening van C-CSF tot minder opnamedagen ?



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

HR-NBL-1: Start: november 2001

Vraagstellingen:

R2:

nagaan of immunotherapie met chimeric 14.18 anti-GD2 antistoffen, na conditionering en toegevoegd aan differentiatie therapie met 13-cis retinoic acid, (Vitamine A) de 3-year EFS bij patienten met hoog risico neuroblastoom zal verbeteren.



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

cis- Retinoic Acid behandeling of vitamine A

Fase 3: prospectieve gerandomiseerde multi-centrische trial

USA:

130 ptn met RA en 129 ptn zonder
EFS en overleving: $46 \pm 6\%$ versus $29 \pm 5\%$, $p=0.027$

(hoge EFS percentages te wijten aan randomisatie na
inductietherapie en stamceltherapie, ptn resistent of vroeg
hervallen vielen er eerder uit)

->differentiatie therapie voor alle patiënten

(noot: UK/ENSG studie toonde geen verschil: maar veel lagere
dosissen gebruikt)



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

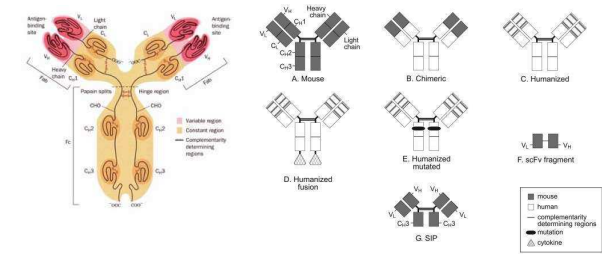
Rationale: Randomisatie voor 'antiGD2', immunotherapie met
chimere 14.18 anti-GD2 antistoffen,

- monoclonale antistoffen (mAb) gericht tegen
disialoganglioside GD2 op neuroblastoomcellen.
- GD2 is aanwezig op bijna alle NB cellen, wordt aanzien als
tumor-geassocieerd antigen (zit ook op normale cellen:
neuronen, huidmelanocyten, perifere zenuwen)
- Chimere antistoffen: antistof bestaat uit 30% muizeneiwit
(variabel domein van eiwit) en 70% menselijk eiwit (constant
domein van menselijk IgG1).



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

- Chimere antistoffen: antistof bestaat uit 30% muizeneiwit
(variabel domein van eiwit) en 70% menselijk eiwit (constant
domein van menselijk IgG1).

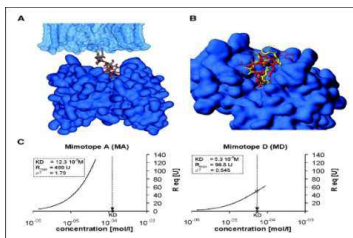


© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

Als antistof op NB cellen bindt wordt *in vitro* immunreactie in
gang gezet, waarbij tumorcellen worden gedood

door antistof afhankelijke cellulaire toxiciteit (ADCC: Antibody-
dependent cell-mediated cytotoxicity)

complement afhankelijke cellulaire cytotoxiciteit (CDC).



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

In vitro testen lijken veelbelovend -> gebruik in phase I trials

Alice Yu, Californië:

- 10 ptn met stadium 4 NB werden behandeld met opklimmende
dosissen
- Neveneffecten: pijn, tachycardie, hypertensie, koorts, urticaria
- Objectieve response: 5 patiënten

Children's Hospital in Tübingen.

- 9 ptn met stadium 4 NB behandeld met dosis van 30, 40 and 50
mg/m²/dag, 5 dagen.
- 'maximum tolerated dose' (MTD) per injectie was 50 mg/m²/dag
- neveneffecten: pijn, jeuk, urticaria, pupilatonie,
oogzenuwproblemen
- Response: 2 ptn met complete remissie, 2 met partiele
remissie, 1 pt met mineure response and 1 met stabiele ziekte,
3 ptn vertonen tumorprogressie



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

Duitse studie: bij grote groep patiënten:

- 20mg/m²/dag, ged 5 dd infuus gedurende 8 u,
- met adequate supportieve care, elke 2 mm.
- neveneffecten 70 ptn: koorts, pijn, CRP stijging, hoesten,
hypotonie, leverstoornissen, oedeem en serum ziekte,
unilaterale en bilaterale iridoplegie, accommodatiestoornissen,
stridor met allergische hoest, zuurstofnood, capillary leak
syndroom.

COG Studie (CCG-0935A):

- Randomisatie na evaluatie voor ASCT:
standaardtherapie met retinoic acid of
therapie met retinoic acid en met immunotherapie
Immunotherapie: cycli van ch14.18 anti-GD2 mAb met
afgewisseld GM-CSF en Interleukin-2



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

Problemen:

1. antiGD2: is niet op de markt als geneesmiddel, was tot dan bereid voor kleinere studies in Duitsland en Europa
Productieproces voor participatie aan HR-NBL-1 was door participerende landen te betalen
Er werd uitgerekend per land: hoeveel ptn in aanmerking komen, bedrag werd per land opgevorderd.
Fondsenwerving voor België via private fondsen: KKF, Fonds Leuven, Televie
2. Aangesproken firma bleek achteraf niet in staat om dergelijke grote productie te verrichten, equipering niet voldoende om grote hoeveelheden cellen in zelfde systeem in kweek te houden (identieke batch nodig): andere firma aangesproken.



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

Problemen:

3. Productie in muizencellen: bevatten virussen, over te gaan naar CHO (Chinese Hamster Ovary cells), opnieuw testen nodig om te bewijzen dat product analoog is van werking, ook in pilootstudie bij ptn
4. Eens nodige hoeveelheid beschikbaar blijkt dat niettegenstaande Europese richtlijnen en directieven elk Europees land toch andere regelgeving heeft betreffende gebruik van monoclonale antistoffen.



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

5. Autoriteiten van verschillende landen vragen elk op zich bijkomende controles ivm productieproces en veiligheid, wat voor firma tijdrovende bezigheid is en tot enorme vertraging van start inclusie van ptn leidt.
6. Net op moment dat in verschillende landen men heel ver staat in verband met toelating tot gebruik en in een paar landen de studie reeds kon gestart worden komt er spectaculair nieuws in verband met de US COG studie.



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

Alice Yu:

COG studie: fase 3 studie: HR-NBL: 2001- Jan 2009

Randomisatie:

- standaard therapie met retinoic acid
- Experimentele arm met retinoic acid en immuuntherapie : antiGD2 ch14.18 in combinatie met GM-CSF (granulocyte – macrophage colony stimulating factor), cyclus 1, 3, 5 of IL-2 (interleukin-2), cyclus 1 en 2
- Inclusie: voor ptn na inductietherapie, stamceltransplant en RT die ten minste partiële response hadden op moment van evaluatie voor ASCT en geen ziekteprogressie hebben na ASCT worden gerandomiseerd tssn dag 50 en dag 100 na ASCT
- NCI (National Cancer Institute): produceerde ch14.18 monoclonale antistoffen



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

Alice Yu:

COG studie: fase 3 studie: HR-NBL: 2001- Jan 2009

Standaardarm: 6 x 4 weken met Retinoic Acid (RA) 2 weken op 4

Immunotherapie arm: 6 x 4 weken

5 cycli van 4 weken
gedurende 4 opeenvolgende dagen ch14.18 aan dosis van 25 mg/m² IV, laatste 2 weken RA peroraal, bij cyclus 1, 3, 5: GM-CSF 250mg/m²/dag vanaf dag -3 voor ch14.18
bij cyclus 2, 4: IL-2 IV 4 dagen in week 1 en 4 dagen in week 2 in continu infuus.

cyclus 6 is enkel RA laatste 2 weken.



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

Alice Yu: COG studie: phase 3 studie: HR-NBL: 2001- Jan 2009

Rationale voor GM-CSF en IL-2

- ptn met kanker hebben vaak verlaagde ADCC, cytokines als GM-CSF en IL-2 kunnen effect verhogen door stijging uit te lokken van aantal granulocyten, macrofagen (door GM-CSF) en NK cellen (door IL-2)
- beter als MRD behandeling (klinische studies met antiGD-2 alleen toonden onvoldoende effect bij massieve ziekte)
- na SCT, na fase van immuunsuppressie

Yu et al, N Eng J Med, 2010, 363: 14 1324-1333,



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

Effect van recombinant interleukin-2 (rIL-2)

- aantal NK cellen verhoogt
- Cytotoxiciteit van NK cellen te verhogen
- genereren van Lymphokine activated leukocyten (LAK)
- Activatie van Antigen specifieke T-cellen
- gammalinterferon en TNF-alpha: stijgen door rIL-2 behandeling
- Gamma-IFN doet antigenen van HLA complex op NB cellen verschijnen zodat meer blootstelling aan immunoreacties

-> triggert antitumoreffect

Effect van GM-CSF

- granulocyten en macrofagenaantal stijgt



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

Alice Yu: COG studie: fase 3 studie: HR-NBL: 2001- Jan 2009

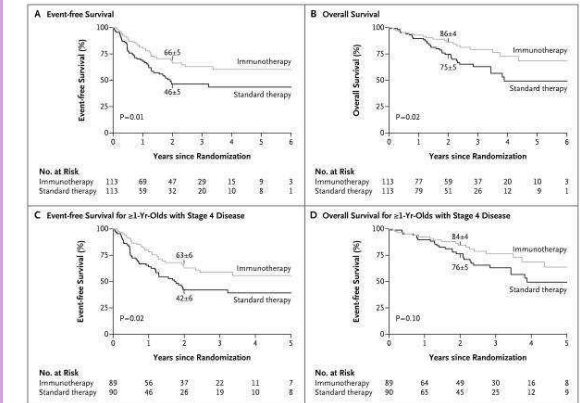
Ptn aantal voorzien voor conclusie :
Verwachte nodige ptn aantallen: voor verschil van 50 % EFS voor standaardarm tov 65 % EFS voor experimentele arm: n= 386

Na inclusie van 226 ptn (ipv 386) werd studie voortijdig gestopt in jan 2009 door safety monitoring committee superioriteit van immunotherapie tov standaard therapie

2 j- EFS 66 % tov 46 % (significant verschil).



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

Yu et al, N Engl J med, 2010

Alice Yu: COG studie: phase 3 studie: HR-NBL: 2001- Jan 2009

Immunotherapie:

toxiciteit voornamelijk in experimentele groep:

pijn, hypotensie, capillary leak, allergie.
Cycli met IL-2: meest neveneffecten
1 pt gestorven na overdosis IL-2
IL-2 is cytokine, betrokken bij capillary leak

Toxische effecten te verwachten omdat dit ook mechanisme van werking op tumorcellen reflecteert:
complement activatie,
antibody dependent cell-gemedieerde cytotoxiciteit (ADCC) door Natural Killer cellen (NK), neutrofielen en monocyten.



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

- Duitse studie met en zonder antiGD2 toonde bij beperkt aantal ptn geen verschil (om de 2 maanden, niet in MRD fase)
- GM-CSF en IL-2: in monotherapie helpt niet voor NB
- Behandelingen met andere antistoffen (Rituximab) in combinatie met IL-2 of GM-CSF toonden geen benefit van GM-CSF of IL-2 bij refractaire ziekte of relapse.



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

HR-NBL-1studie, start in 2001

Opmerkingen en aanpassingen SIOPEN HR-NBL1:

- Niet ethisch verantwoord van randomisatie zonder en met antiGD2
- Verbeterde ESF door antiGD2? Wat is de rol van IL2 en GM-CSF? verhogen toxiciteit en opnameduur
- GM-CSF: is in Europa momenteel niet beschikbaar
- IL-2 IV is meer toxisch dan IL-2 SC, IL-2 SC al gebruikt in NB met gunstig effect
Ladenstein et al., JCO, 2011: 29, 441-448



© 2008 Universitair Ziekenhuis Gent

Welke studiearmen dan?

'Standaardarm' is beste arm van COG studie

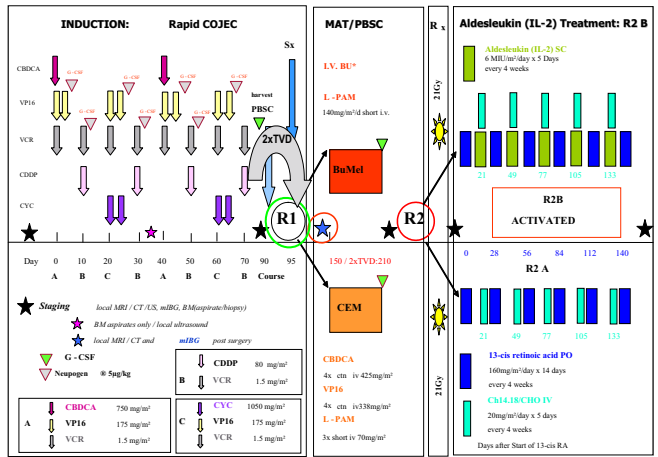
met RA, antiGD2, GM-CSF en IL-2: niet mogelijk (geen GM-CSF beschikbaar in Europa)

Randomisatie R2: vraag naar rol van IL-2

Retinoic Acid met antiGD2 versus
 Retinoic Acid met antiGD2 met IL-2 SC
 SC heeft effect bewezen en is minder toxisch dan IV



HR-NBL-1 / SIOPEN FLOWSHEET



Treatment schedule for 13-cis RA, ch14.18/CHO with or without aldesleukin (IL-2) for patients elected by randomisation in R2

W ₁	W ₂	W ₃	W ₄	W ₅	W ₆	W ₇	W ₈	W ₉	W ₁₀	W ₁₁	W ₁₂
			GD ₂				GD ₂				GD ₂
RA	RA	IL-2	IL-2	RA	RA	IL-2	IL-2	RA	RA	IL-2	IL-2

W ₁₃	W ₁₄	W ₁₅	W ₁₆	W ₁₇	W ₁₈	W ₁₉	W ₂₀	W ₂₁	W ₂₂
		GD ₂				GD ₂			
RA	RA	IL-2	IL-2	RA	RA	IL-2	IL-2	RA	RA

US studie heeft mede via druk van ouderorganisaties (vb in UK) ervoor gezorgd dat autoriteiten in elk land sneller tot goedkeuring toediening antiGD2 overgingen.

Start in België:

7 ptn gerandomiseerd,

- 4 ptn voor antiGD2 met IL-2
- 3 ptn voor antiGD2 zonder IL-2

SIOPEN-HR-NBL-1 studie:

Alle ptn moeten nu antiGD2 krijgen, te kort aan antiGD2 voor studie: productie gesprekken met firma om dit commercieel beschikbaar te maken zijn gestart en dossier voor EMA (European Medical Agency) is ingediend.

Momenteel antiGD-2 alleen beschikbaar voor ptn gerandomiseerd in studie

HR-NBL1.5 studie

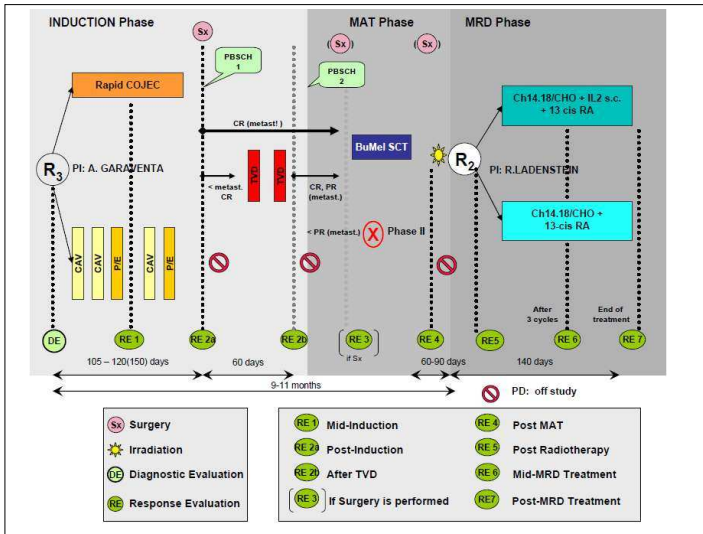
HR-NBL-1:

Recrutering van groot aantal ptn
 bijkomende randomisatie is toegevoegd: R3

HR-NBL1.5

Rapid COJEC (Europese inductie) versus N5 (Amerikaans protocol)

België klaar voor start amendement

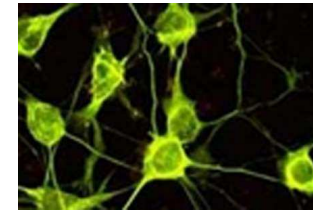


Volgende studies en toekomst:

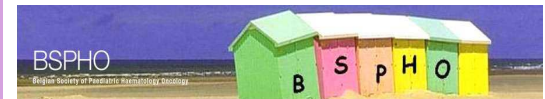
Antistoffen beschikbaar maken voor meer ptn, studie wordt opgesteld voor ptn met refractair neuroblastoom of met relapse

Verbetering van antistoffen: zntistoffen tegen GD2 met IL2 eraan gekoppeld

Nieuwe HR NBL studie wordt voorbereid



<https://www.siopen-r-net.org/>



<http://www.bspho.be>

Besluit

- Anti-GD2: wordt gebruikt om immunreactie tegen neuroblastoomcellen op te roepen
- Interleukine-2 versterkt mogelijks de immunreactie: studie door randomisatie in HR-NBL-1
- Rol van GM-CSF?
- Goede Europese samenwerking is essentieel om vooruitgang te boeken
- HR neuroblastoom blijft nog moeilijk te genezen ziekte, maar er is hoop op duidelijke verbetering van genezingskansen.



Identieke tweeling, één meisje werd behandeld voor HR-NB in HR-NBL1