

“Progetto Ematologia-Romagna”
Ravenna, 5 Maggio 2018

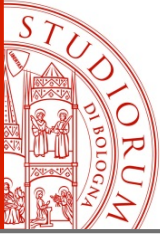
**Leucemie acute:
ruolo delle terapie «target»
*inquadramento***

Antonio Curti

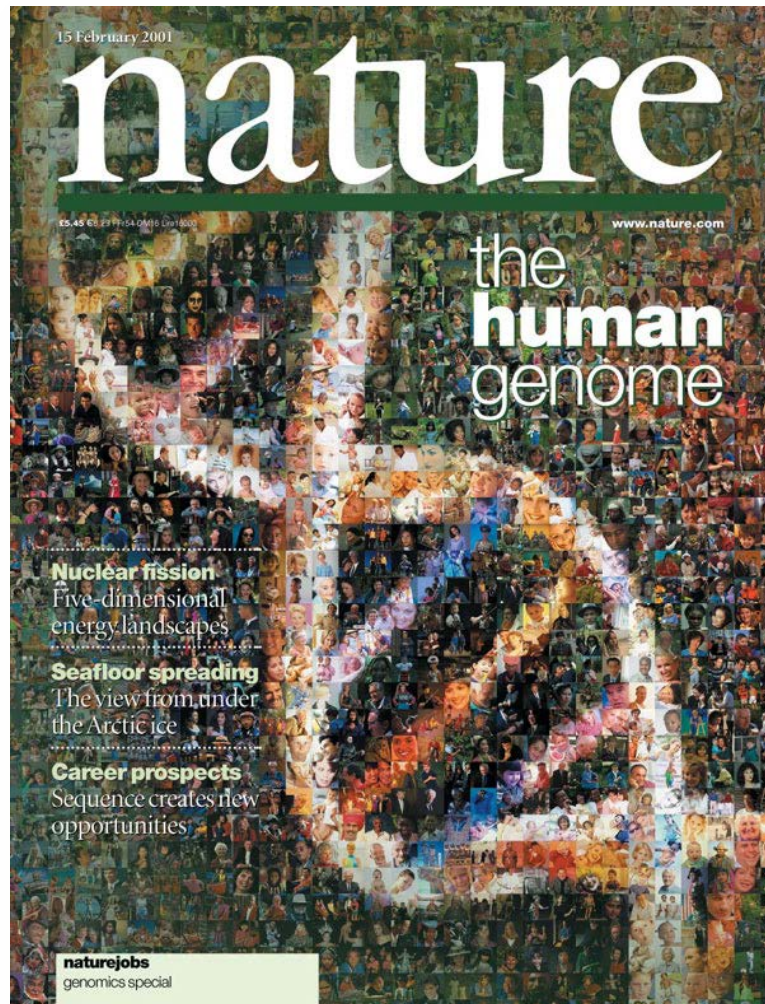
Istituto di Ematologia e Oncologia Medica “L e A Seràgnoli”

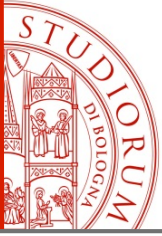
Policlinico S.Orsola-Malpighi

Università di Bologna

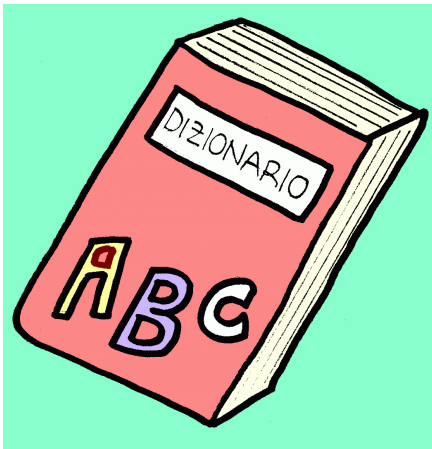


La Genomica è alla base della nuova Medicina

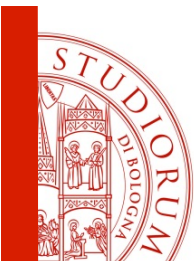




La Medicina di Precisione: definizione



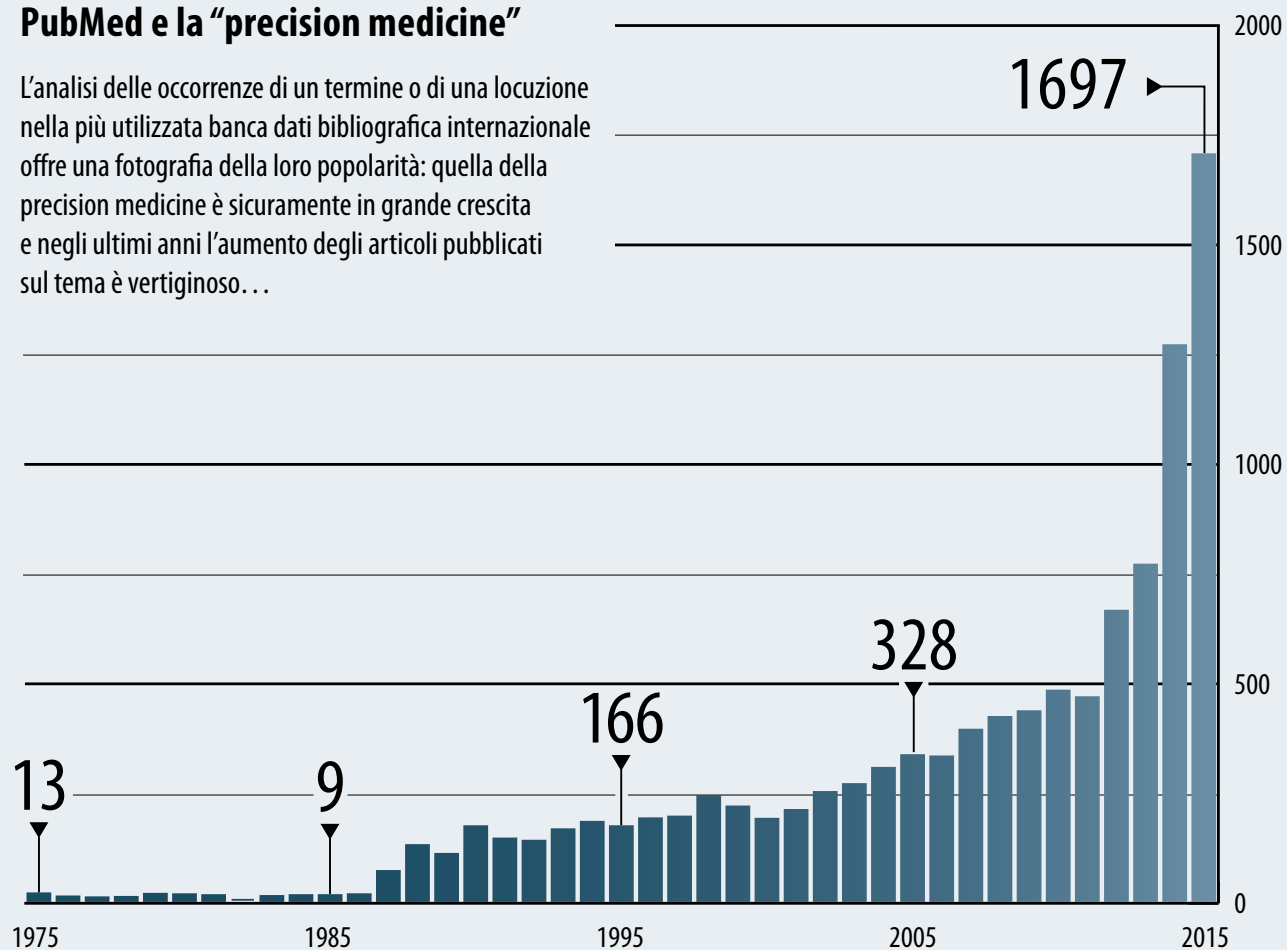
Modello di medicina caratterizzato dalla possibilità di identificare la suscettibilità di una **singola persona** alle malattie comuni, di misurarne il livello di rischio, di **personalizzare la terapia in base alla costituzione genetica** del paziente e di **offrire nuove opzioni terapeutiche** basate sulla interazione dei farmaci con nuovi bersagli molecolari al fine di assicurare il **miglior esito possibile in termini di salute**.



PubMed e la Medicina di Precisione

PubMed e la "precision medicine"

L'analisi delle occorrenze di un termine o di una locuzione nella più utilizzata banca dati bibliografica internazionale offre una fotografia della loro popolarità: quella della precision medicine è sicuramente in grande crescita e negli ultimi anni l'aumento degli articoli pubblicati sul tema è vertiginoso...



Fonte: www.pubmed.gov

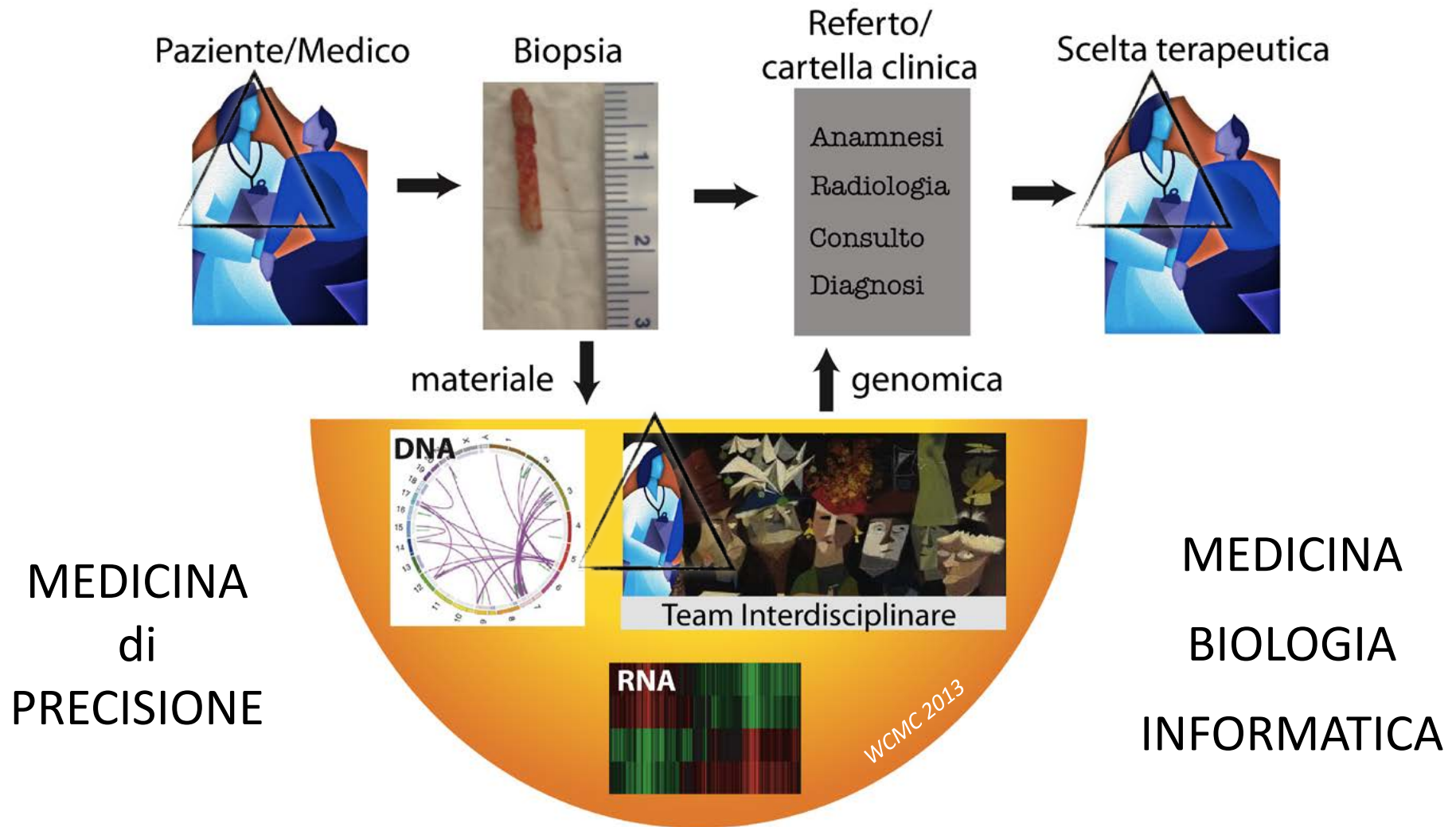


La Medicina di Precisione: presupposti

- La medicina personalizzata si basa su un presupposto fondamentale: la **differenza delle persone**, del loro **patrimonio genetico** e della **risposta** che ogni gruppo di cellule dà ad una eventuale variazione genetica.
- **Ogni persona, deve essere trattata come un individuo unico** e non come una sorta di media statistica. Proprio studiando il profilo genetico o effettuando uno specifico test genetico proprio di ogni individuo, si può valutare l'efficacia di un determinato farmaco, gli eventuali effetti avversi e addirittura il dosaggio più indicato per ogni singolo individuo.



Percorso clinico verso la terapia





La Medicina di Precisione: le sfide

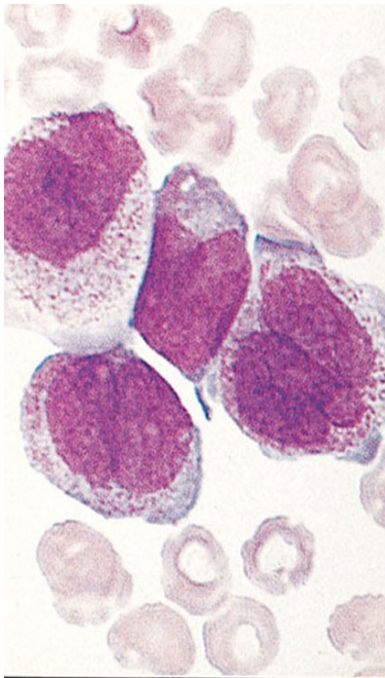
Identificare e comprendere le lesioni genetiche responsabili della crescita tumorale

- I progressi della tecnologia stanno fornendo **una grande quantità di informazioni sulla composizione genetica dei tumori**, consentendo di sviluppare trattamenti più personalizzati.
- **Come utilizzarle?**
- **E' necessario identificare le molecole chiave all'interno di una cellula cancerogena che stanno "guidando" la crescita del cancro.** Trovando le molecole responsabili della progressione del cancro, potrebbe essere possibile bersagliarle con farmaci specifici.

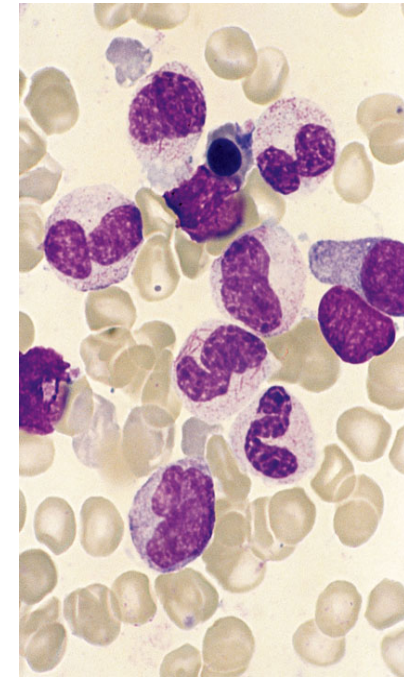


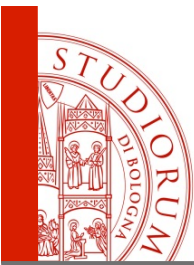


Implicazione terapeutica: Leucemia Acuta Promielocitica

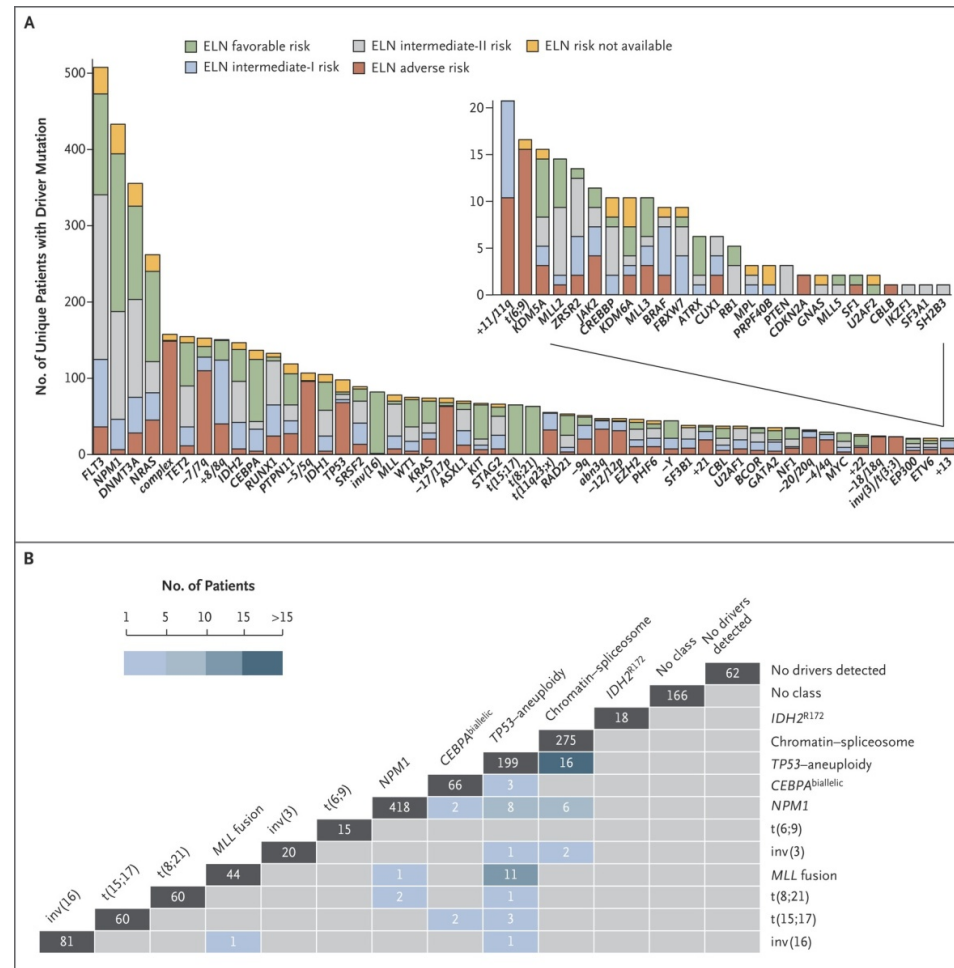


VITAMINA A
(Acido all-trans
retinoico) e
TRIOSSIDO DI
ARSENICO

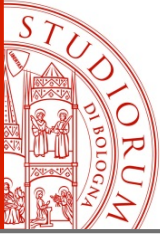




Landscape of Driver Mutations in Acute Myeloid Leukemia



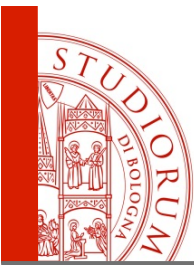
Papaemmanuil E et al. *N Engl J Med* 2016;374:2209-2221



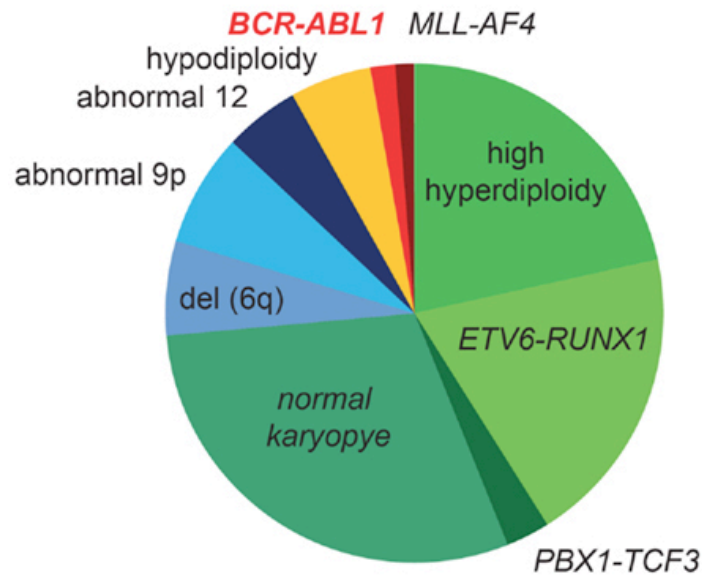
Leucemia Acuta Mieloide: classificazione WHO 2016

AML and related neoplasms	AML and related neoplasms (cont'd)
AML with recurrent genetic abnormalities	Acute myelomonocytic leukemia
AML with t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i>	Acute monoblastic/monocytic leukemia
AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i>	Pure erythroid leukemia#
Acute promyelocytic leukemia with <i>PML-RARA*</i>	Acute megakaryoblastic leukemia
AML with t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A†</i>	Acute basophilic leukemia
AML with t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i>	Acute panmyelosis with myelofibrosis
AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2,MECOM(EVI1)</i>	Myeloid sarcoma
AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13.3;q13.3); <i>RBM15-MKL1‡</i>	Myeloid proliferations related to Down syndrome
Provisional entity: AML with <i>BCR-ABL1</i>	Transient abnormal myelopoiesis
AML with mutated <i>NPM1§</i>	Myeloid leukemia associated with Down syndrome
AML with biallelic mutations of <i>CEBPA§</i>	Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm
Provisional entity: AML with mutated <i>RUNX1</i>	Acute leukemias of ambiguous lineage
AML with myelodysplasia-related changes	Acute undifferentiated leukemia
Therapy-related myeloid neoplasms¶	MPAL with t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1**</i>
AML, NOS	MPAL with t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> rearranged
AML with minimal differentiation	MPAL, B/myeloid, NOS
AML without maturation	MPAL, T/myeloid, NOS
AML with maturation	

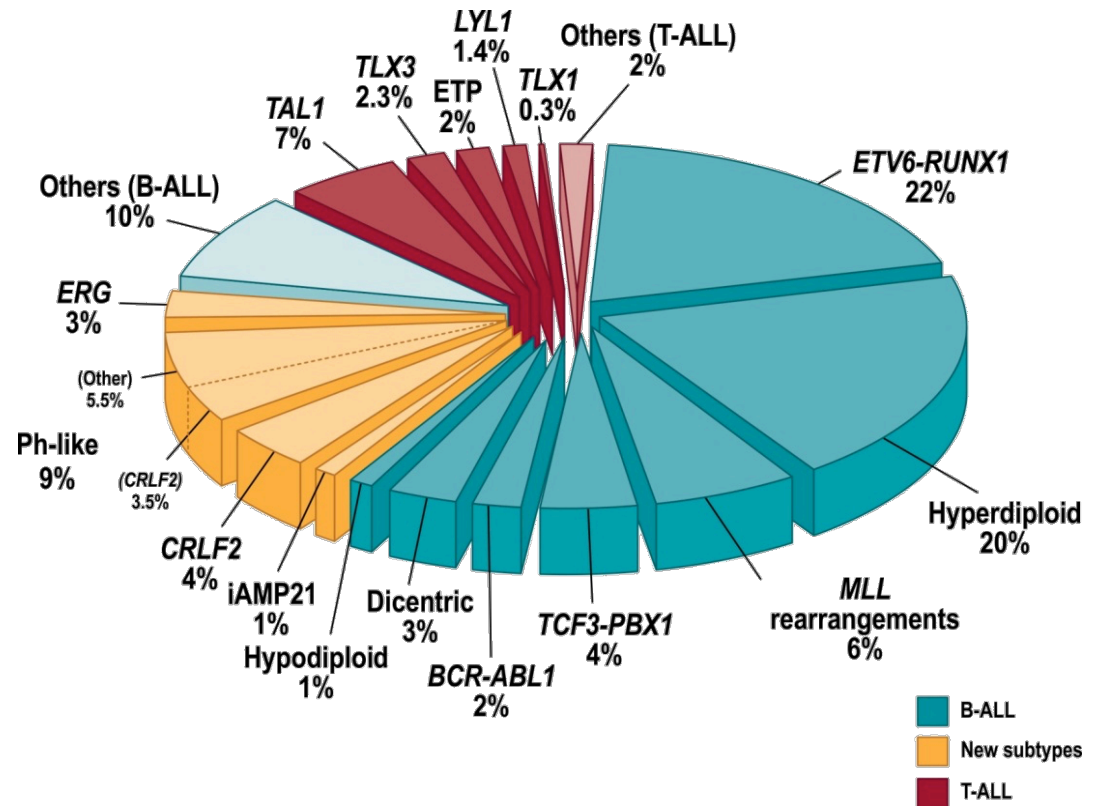
Dohner H et al, Blood 2017



Leucemia Acuta Linfoblastica: diagnosi



Pui CH, NEJM 2004



Mullighan C, J Clin Inv 2012

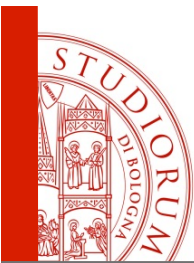


La Medicina di Precisione: le sfide

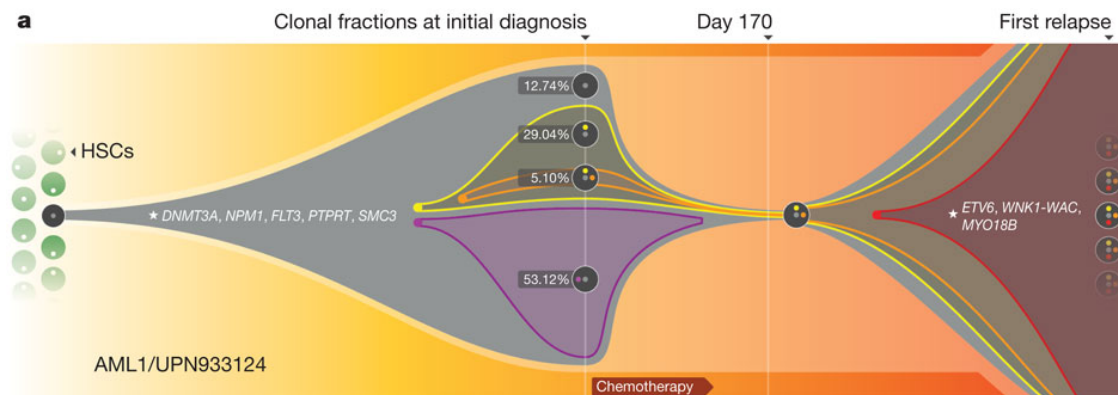


Trovare strategie per superare la resistenza ai farmaci

- C'è margine di miglioramento per la medicina personalizzata. Sono state osservate **resistenze ai farmaci** per terapie che hanno mostrato benefici sostenuti, come Gleevec. Ciò accade **perché il cancro è in costante evoluzione e spesso sviluppa ulteriori cambiamenti genetici, o mutazioni, per adattarsi e ricrescere dopo il trattamento.**
- Quando un percorso genetico viene preso di mira dalla terapia, le cellule tumorali possono evolversi e attivarne un'altra in modo che possano continuare a crescere e progredire. Questa è stata una grande sfida in termini di medicina personalizzata.
- Come lo superiamo? Con l'uso della **terapia combinata.**
- Ad esempio: medicina personalizzata e immunoterapia, che sfrutta il sistema immunitario di un paziente.

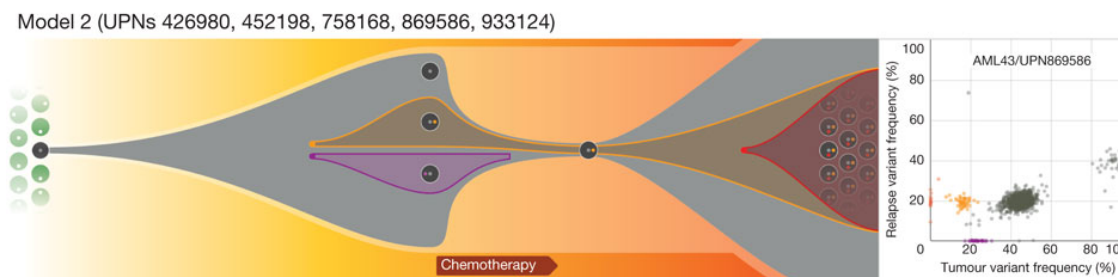
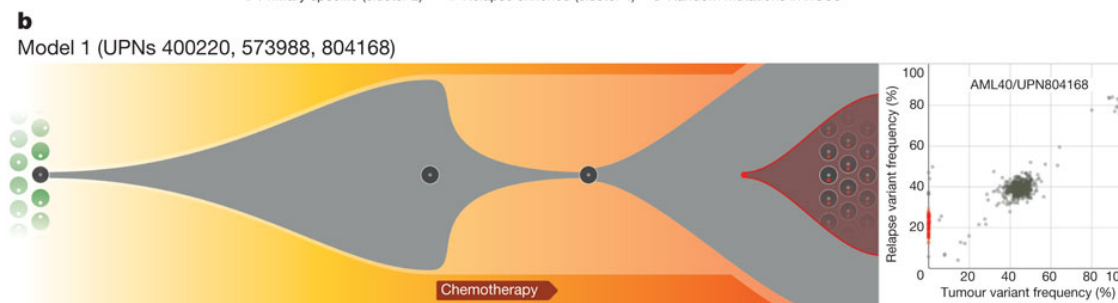


Evoluzione clonale: una sfida aperta alla medicina personalizzata e alle terapie target



Cell type: ● Normal ● AML

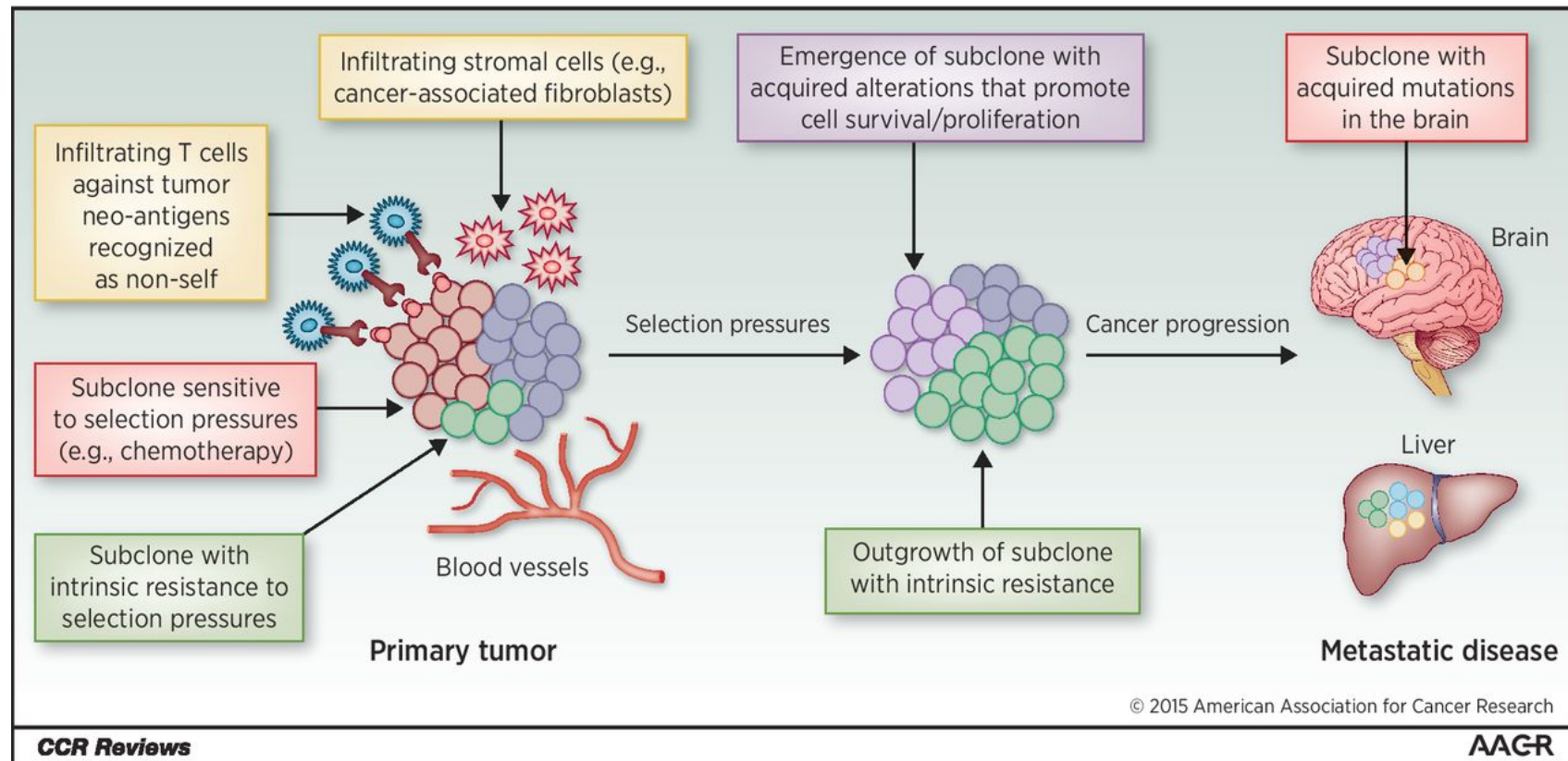
Mutations: ● Founding (cluster 1) ● Relapse enriched (cluster 3) ● Relapse specific (cluster 5) ★ Pathogenic mutations
● Primary specific (cluster 2) ● Relapse enriched (cluster 4) ○ Random mutations in HSCs



Graphical representation of clonal evolution from the primary tumour to relapse in UPN 933124, and patterns of tumour evolution observed in eight primary tumour and relapse pairs.

L Ding *et al.* *Nature* **000**, 1-5 (2012) doi:10.1038/nature10738

Intratumor heterogeneity and clonal evolution: the immunological pressure

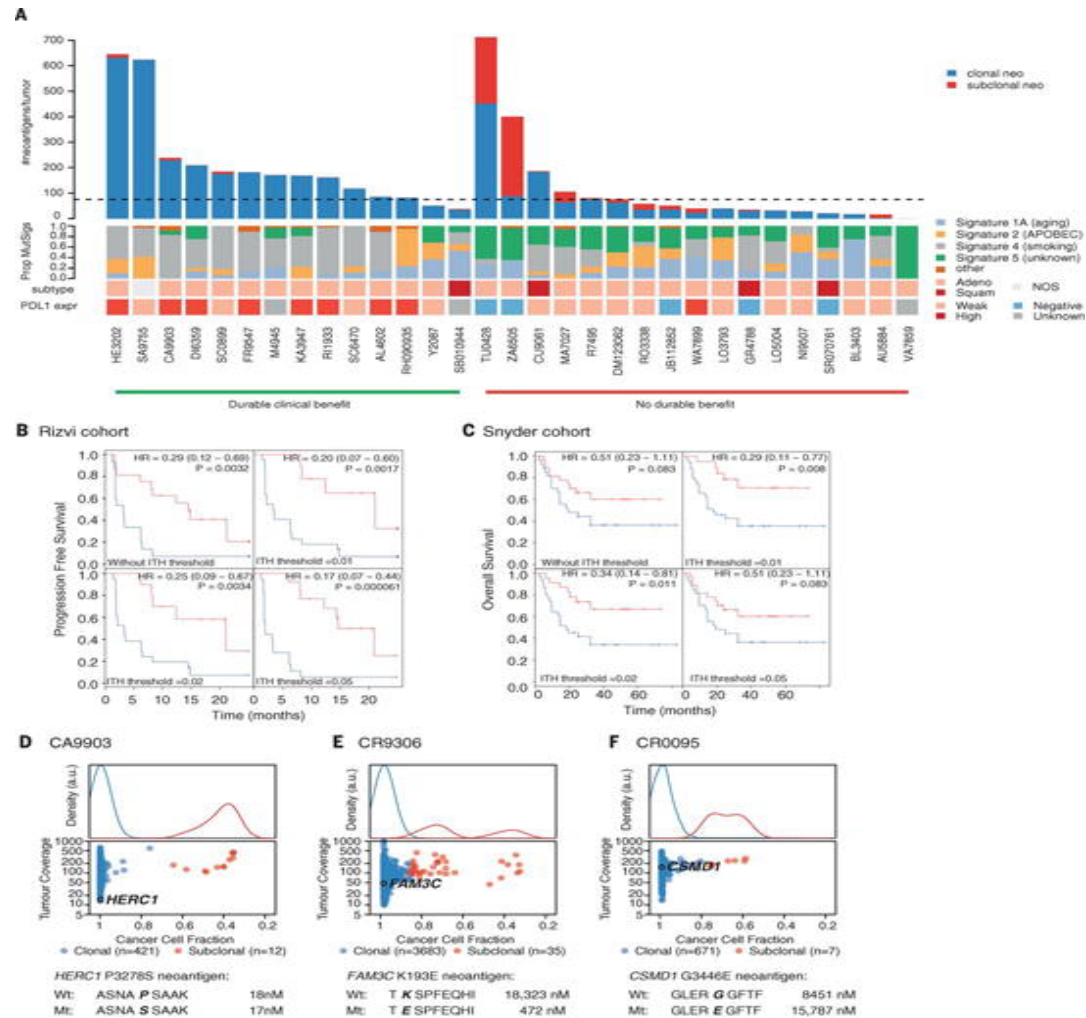


Mariam Jamal-Hanjani et al. Clin Cancer Res
2015;21:1258-1266

**Clinical
Cancer Research** AAGR American Association
for Cancer Research

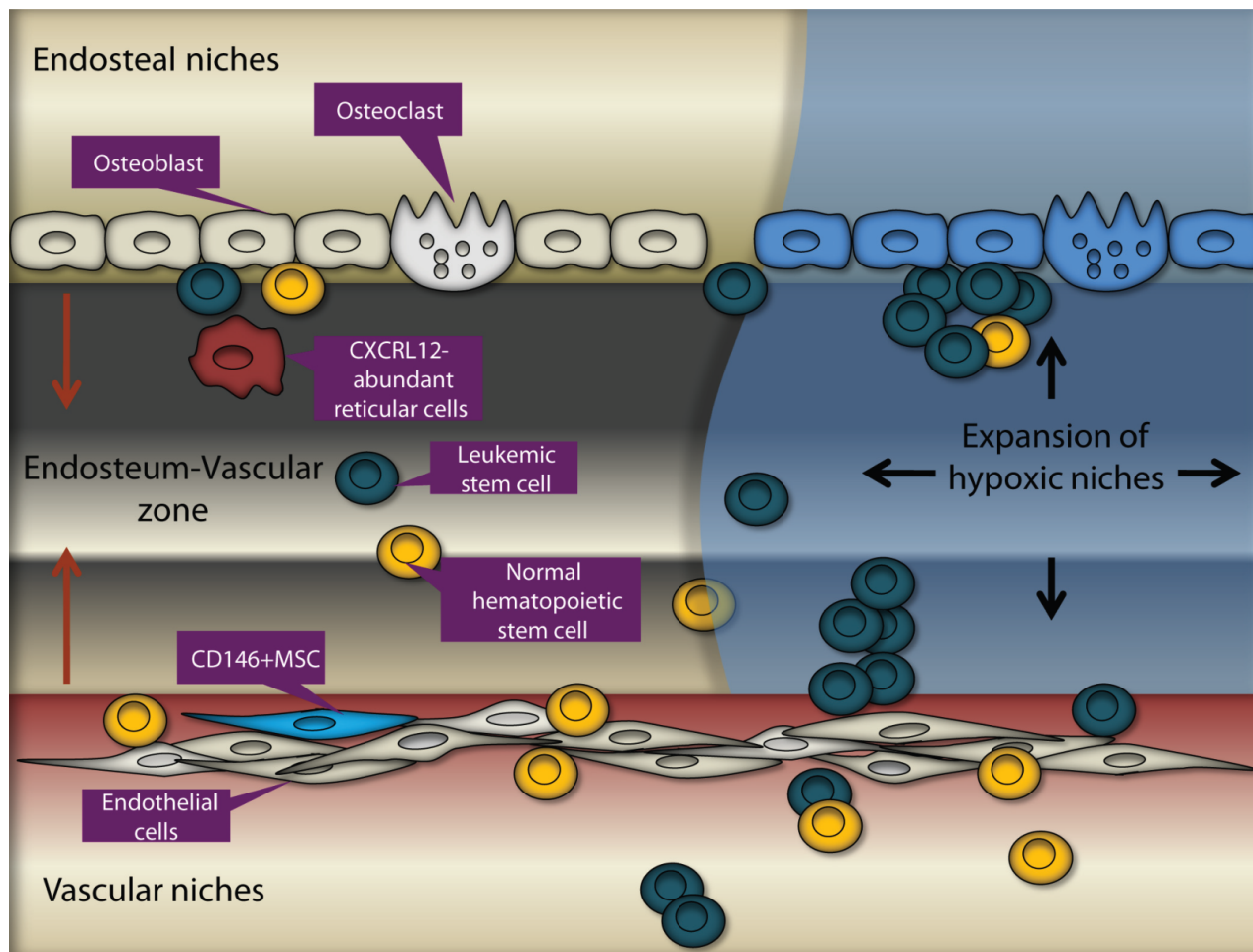


Neoantigen clonal architecture and clinical benefit of immune checkpoint blockade



M Granahan et al, Science. 2016

Leukemia Stem Cells and Microenvironment: Biology and Therapeutic Targeting



J Clin Oncol 29:591-599. 2011



Le sfide della Medicina di Precisione nella metodologia clinica

Seguendo l'approccio della medicina di precisione, la disponibilità di test molecolari per un numero elevato di biomarcatori ha determinato l'aumento non solo di nuovi farmaci potenzialmente utili, ma anche dei sottotipi di malattie tumorali da trattare.

PROBLEMA

tumori frequenti sono trattati oggi come malattie rare.

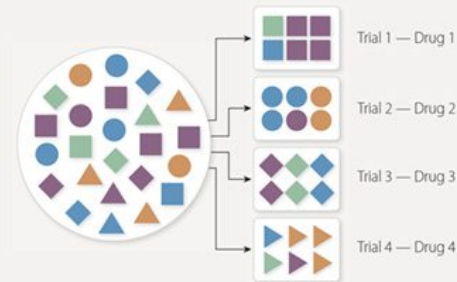
gli studi clinici sono diventati difficili da condurre attraverso i disegni classici per la difficoltà nel reclutamento dei pazienti. Ad esempio, se un biomarcatore è presente nel 2% della popolazione (prevalenza tipica di molti segmenti molecolari), la valutazione di 100 pazienti renderà possibile l'inclusione in un trial sulla medicina di precisione solo di due soggetti.

Le nuove tipologie di clinical trials

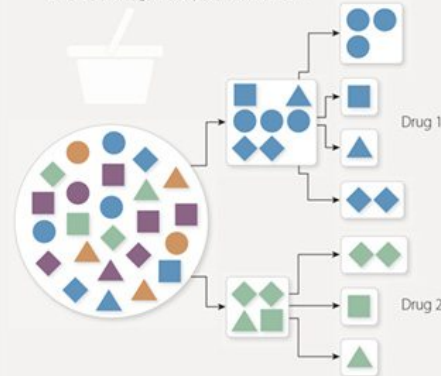
Gran parte delle sperimentazioni cliniche in oncologia segue il modello dei trial tradizionali nei quali i nuovi farmaci sono valutati in pazienti con lo stesso tipo di tumore. Il cancro, però, è tutt'altro che una sola patologia: sono noti oltre 200 sottotipi di tumore con una notevole variabilità genetica e quest'ultima rappresenta ormai un aspetto almeno tanto importante quanto la sede di origine della malattia, ai fini della risposta al trattamento.



Clinical trial Basato sull'istologia tumorale

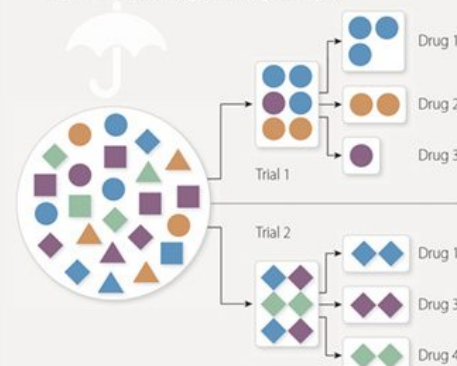


Basket trial Basato sul genotipo del tumore



Il basket trial è indipendente dalla valutazione istologica e i bracci di trattamento si basano sulle mutazioni "condivise" dai pazienti. Le coorti di trattamento possono dunque essere più inclusive di mutazioni rare. Le risposte possono essere valutate per l'intera coorte o per le caratteristiche individuali.

Umbrella trial Basato sull'istologia e sul genotipo



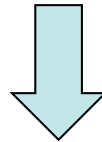
Lo studio "ad ombrello" valuta anche l'efficacia dei farmaci sul tipo di tumore individuale. La genotipizzazione del tumore suddivide i pazienti sulla base delle mutazioni per valutare le terapie target appropriate. I farmaci sperimentali possono essere valutati per diversi tipi di tumore con la stessa mutazione all'interno dello stesso studio o in un trial separato.



Nuovi trial clinici: problemi aperti

Problema

numerosità del campione associato all'uso dei biomarcatori



1) lo sviluppo di infrastrutture con l'obiettivo di trovare il trial giusto per il singolo paziente. Allo scopo vengono impiegati i cosiddetti "master protocol", che prevedono l'uso di batterie di test diagnostici per assegnare i pazienti a una rete di trial in corso.

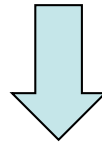
2) Introduzione nel disegno del trial di sistemi adattativi o flessibili, in base ai quali i risultati preliminari che via via vanno accumulandosi durante la conduzione possono essere utilizzati (secondo modalità definite a priori) per modificare il corso o la struttura del trial.



Nuovi trial clinici: problemi aperti

Problema

Definizione di precisione. Quanto possiamo essere «precisi»??



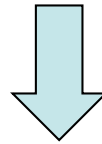
Siamo abituati a pensare che un nuovo trattamento abbia una relazione lineare con un singolo biomarcatore. Tuttavia, sempre più spesso i dati mostrano invece che una serie di biomarcatori è coinvolta nel meccanismo di azione di un singolo farmaco, e quindi più di un biomarcatore è predittivo dell'efficacia clinica. In pratica, il farmaco presentato come “targeted” si scopre come “multi-targeted”.



Nuovi trial clinici: problemi aperti

Problema

La dinamica del biomarcatore. Come influenza il processo decisionale?



Anche in oncologia lo stato di espressione di un biomarcatore varia nel tempo, dipende dallo stadio della malattia tumorale e dai trattamenti precedenti. Un paziente che oggi, sulla base del test negativo al biomarcatore, potrebbe essere definito come non responder (non eleggibile), potrebbe diventare eleggibile in momenti successivi. Per rendere ancora più confuse le cose, bisogna considerare che biopsie ripetute in sedi diverse del medesimo organo possono generare profili biomolecolari differenti.



Come dimostrare l'efficacia?

Questi nuovi disegni di studio sembrano funzionare nella selezione dei pazienti, innanzitutto nelle fasi precoci dello sviluppo clinico

MA

«Per la dimostrazione dell'efficacia clinica non sembrano emergere proposte alternative a quella del disegno RCT, che rimane quindi lo standard di riferimento» (Biankin et al, Nature 2015)



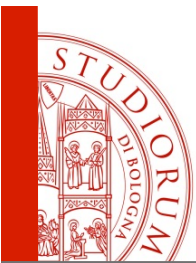
Spunti personali per la discussione

Il concetto di target è spesso associato a quello di bersaglio molecolare, frutto di mutazioni o riarrangiamenti genici. Un nuovo approccio potrebbe includere il targeting di **bersagli funzionali** (metabolismo cellulare), capaci di agire sulla policlonalità della leucemia

La complessità genetica delle leucemie acute consiglia di mantenere un approccio terapeutico anche a «largo spettro» almeno nella fase iniziale di trattamento >>
rivisitazione del ruolo della chemioterapia

Le terapia «target» potrebbero risultare più efficace **nell'eradicazione dei cloni residui** dopo una approccio terapeutico «debulking».

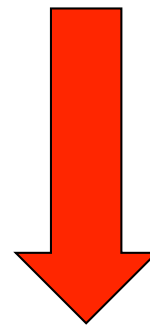
Il ruolo del **microambiente leucemico** è biologicamente ben definito, ma rimane poco esplorato in chiave terapeutico



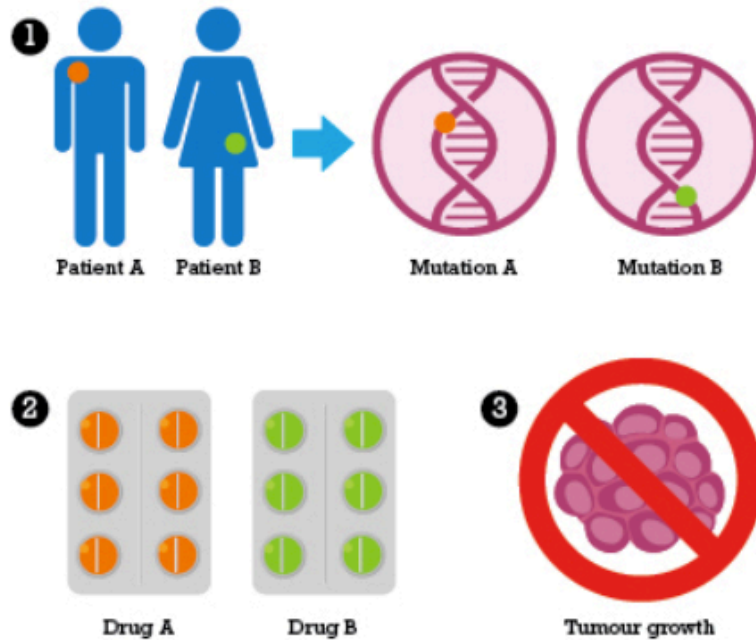


La Medicina di Precisione

La disponibilità oggi delle **conoscenze genomiche** permette di rendere più efficace il processo di scoperta di nuovi farmaci, mediante **l'identificazione di nuovi bersagli biologici** ("il bersaglio più appropriato per ciascuna malattia") e di migliorare l'efficacia e la tollerabilità del farmaco attraverso la **personalizzazione del trattamento preventivo o terapeutico sulla base delle caratteristiche genetiche del paziente** ("il farmaco più appropriato per ciascun paziente").

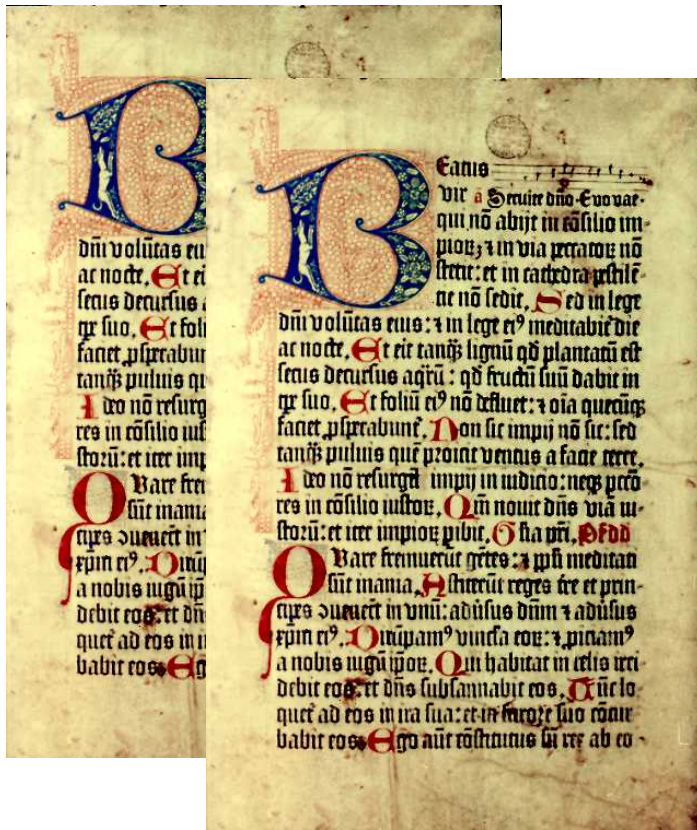


MEDICINA DI PRECISIONE

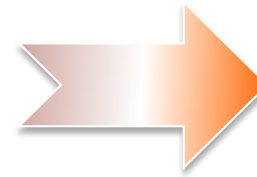


Personalized medicine:

1. The genetic changes in a person's cancer are discovered.
2. Drugs that target these genetic changes are identified.
3. The patient is treated and their response to therapy is monitored.



GENE/DNA
ALTERATO



SELEZIONE
TERAPIA
SPECIFICA



La Medicina di Precisione: implicazioni

- Il raggiungimento di tali obiettivi non dipende solamente dallo sviluppo della conoscenza scientifica, ma anche dalla appropriata gestione delle **implicazioni etiche, legali e sociali** associate alla ricerca ed alla applicazione delle nuove tecnologie.
- Tali implicazioni, riguardano essenzialmente:
 - ✓ la **gestione delle informazioni** genetiche e gli aspetti relativi al consenso informato, alla privacy e alla confidenzialità;
 - ✓ la **stratificazione** o differenziazione tra i pazienti;
 - ✓ l'**equità nell'accesso alle cure** mediche

La Medicina di Precisione: le sfide



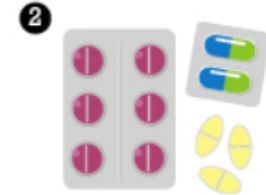
The challenges facing personalized medicine:

1. Identifying and understanding the "drivers" of cancer growth
2. Identifying drugs that can target these drivers
3. Finding new ways to overcome drug resistance
4. Designing better clinical trials to test new treatments
5. Testing the use of personalized medicine in the clinic

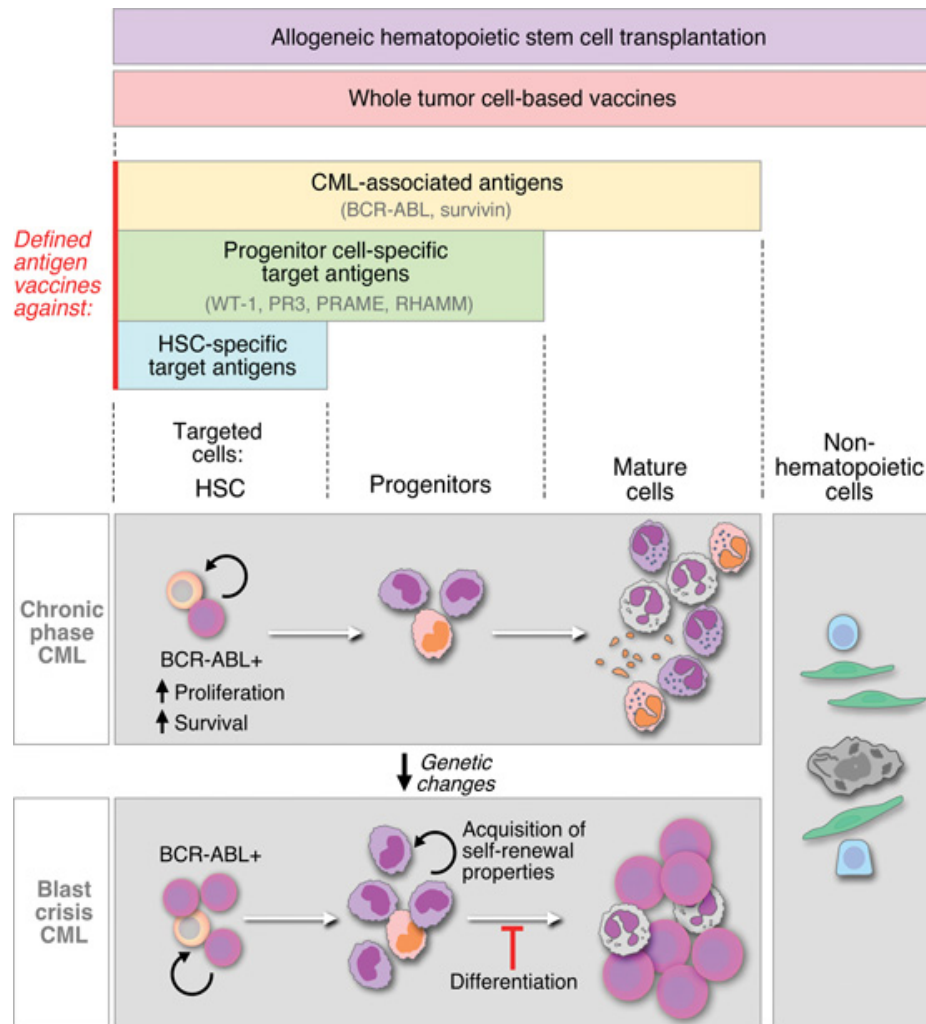


La Medicina di Precisione: le sfide

2- Identificazione di farmaci che possono colpire questi “driver”



- I farmaci non sono disponibili per ogni cambiamento genetico noto per guidare la crescita del cancro.
- Sebbene siano disponibili farmaci per alcune alterazioni “driver”, la proporzione di pazienti il cui cancro contiene tali mutazioni è bassa. Pertanto, **solo una piccola percentuale di pazienti trarrebbe beneficio da questi farmaci.**
- Con il tempo, dovrebbero essere disponibili nuovi farmaci indirizzati verso mutazioni “driver” responsabili del processo di crescita tumorale.

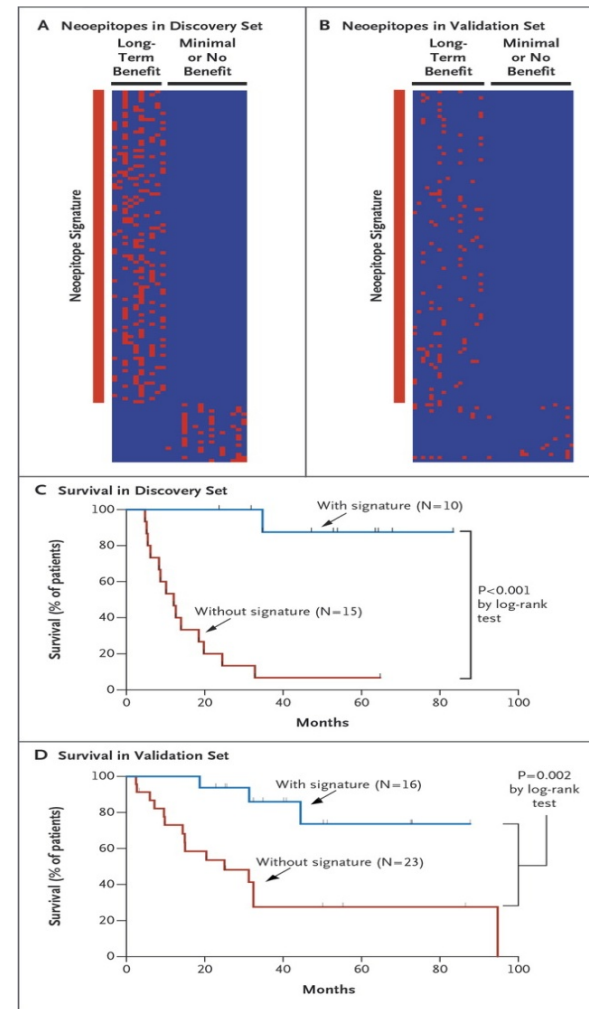
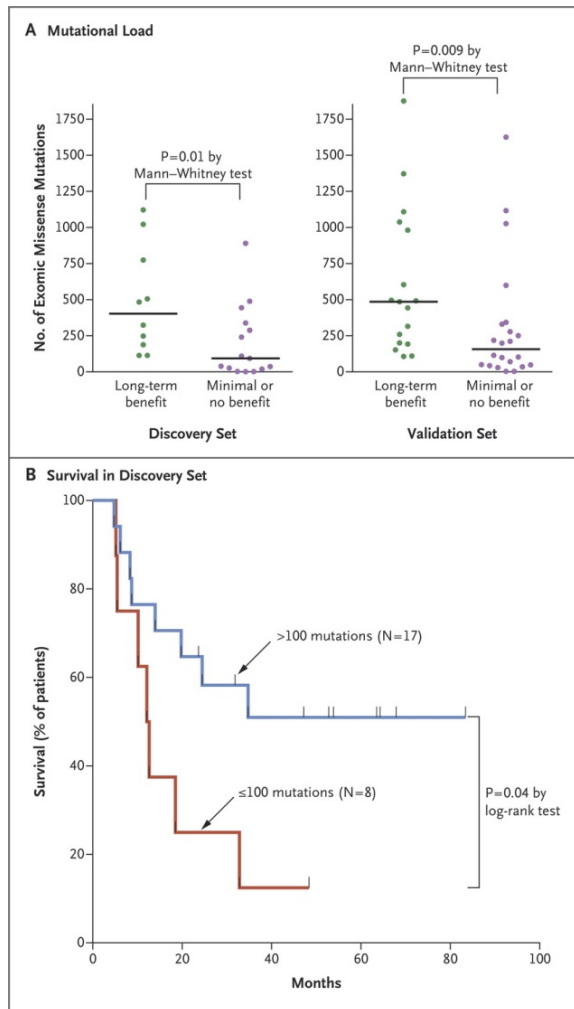


Specificity of immune responses against the malignant cancer-initiating cell depends on where antigen targets are expressed in the cell differentiation hierarchy

The Stem Cell Research Community, StemBook, doi/10.3824/stembook.1.21.1

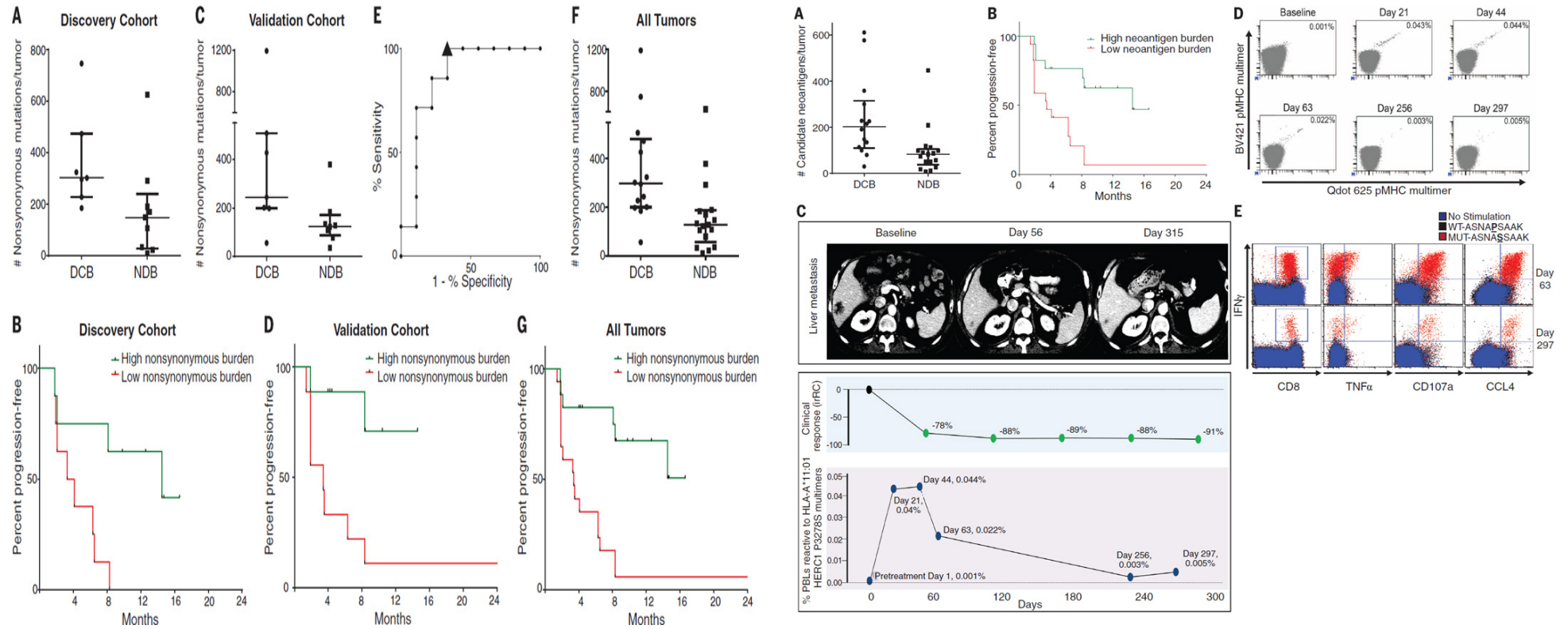


Degree of mutational load and a specific neoepitope signature correlates with a clinical benefit from CTLA-4 blockade in melanoma patients.



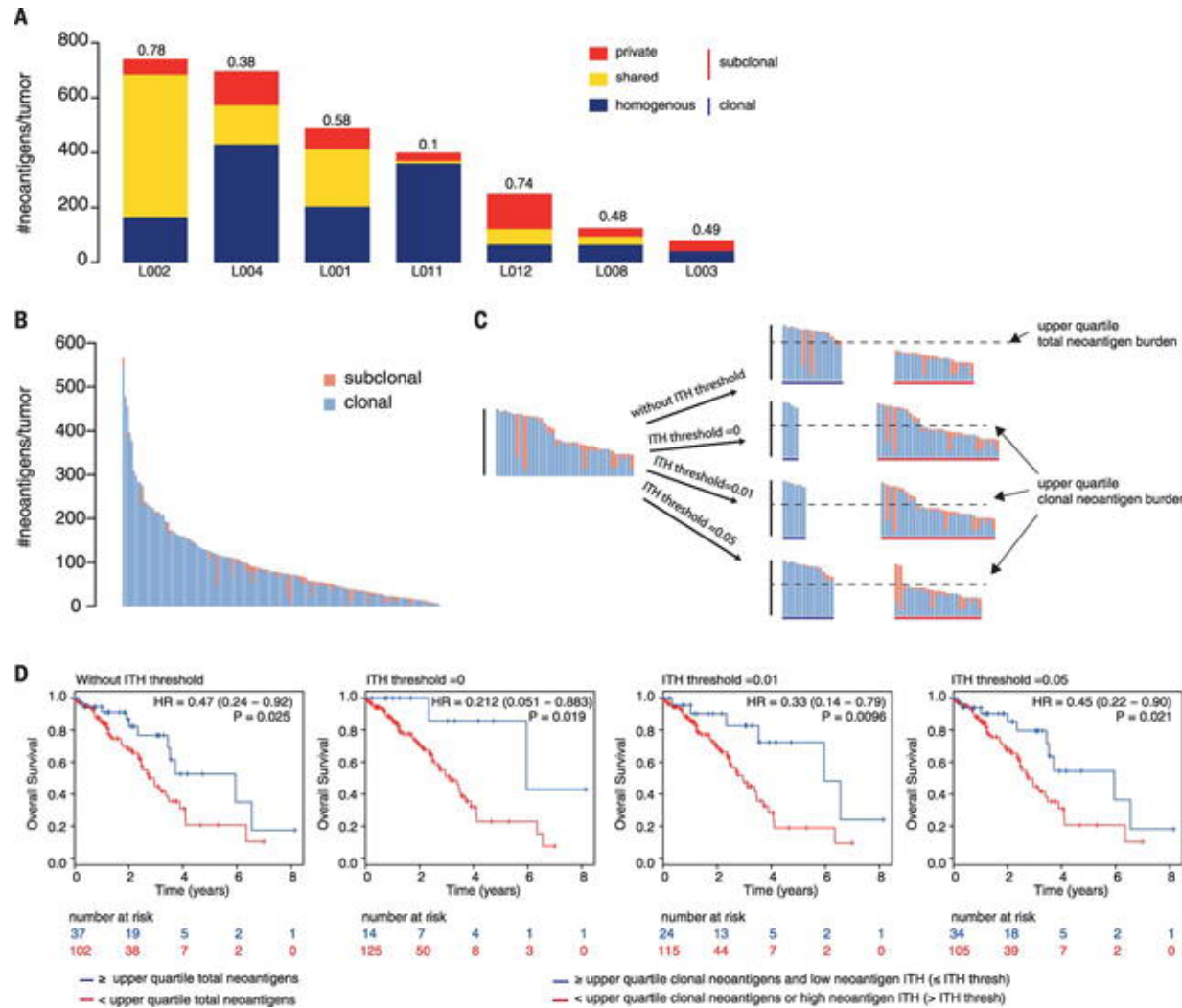


Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer.





Heterogeneity and prognostic value of neoantigen landscape in primary NSCLC



Proposed Genomic Classification of Acute Myeloid Leukemia

Table 1. Proposed Genomic Classification of Acute Myeloid Leukemia (AML).

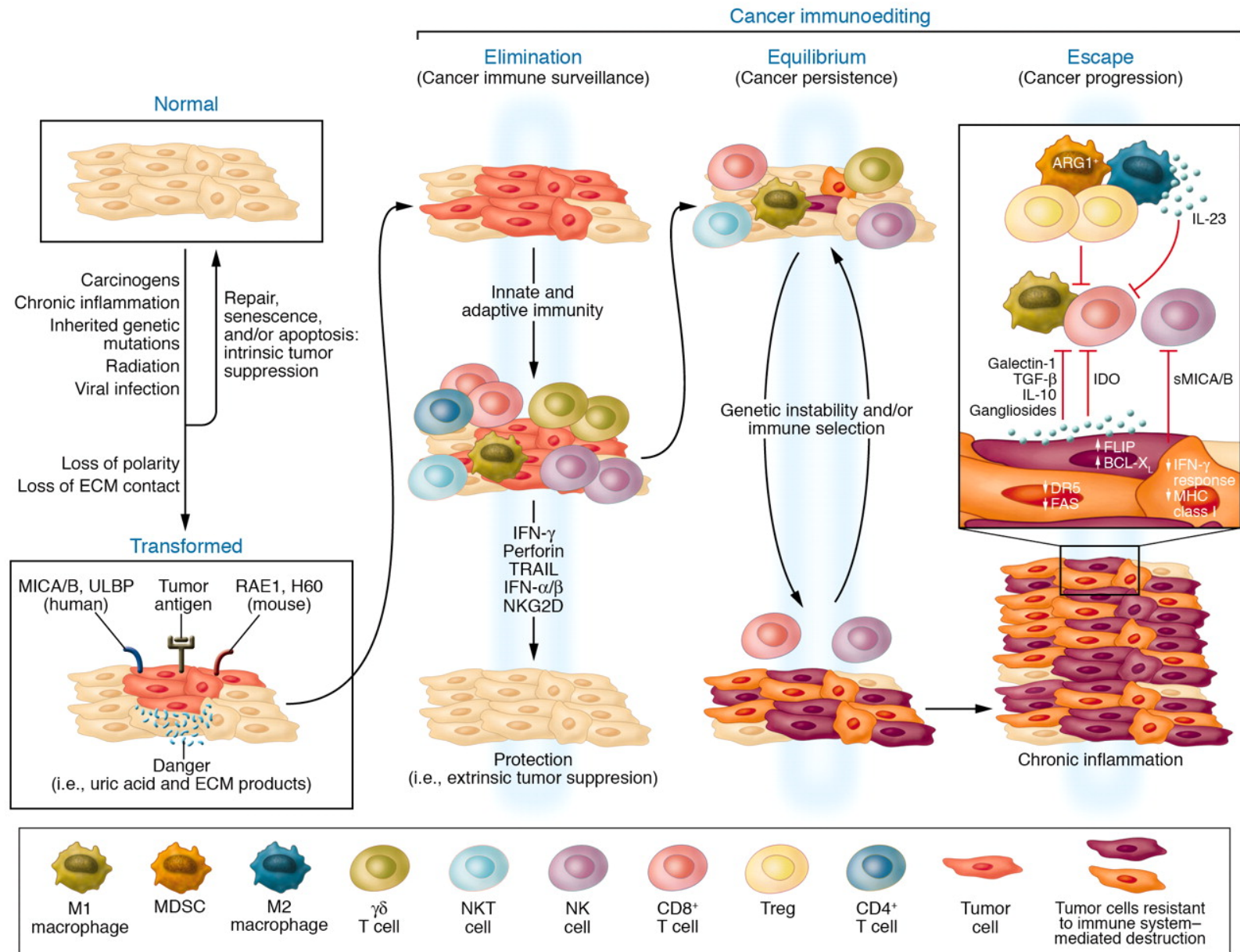
Genomic Subgroup	Frequency in the Study Cohort (N = 1540)	Most Frequently Mutated Genes*
	no. of patients (%)	
AML with <i>NPM1</i> mutation	418 (27)	<i>NPM1</i> (100), <i>DNMT3A</i> (54), <i>FLT3</i> ^{ITD} (39), <i>NRAS</i> (19), <i>TET2</i> (16), <i>PTPN11</i> (15)
AML with mutated chromatin, RNA-splicing genes, or both†	275 (18)	<i>RUNX1</i> (39), <i>MLL</i> ^{PTD} (25), <i>SRSF2</i> (22), <i>DNMT3A</i> (20), <i>ASXL1</i> (17), <i>STAG2</i> (16), <i>NRAS</i> (16), <i>TET2</i> (15), <i>FLT3</i> ^{ITD} (15)
AML with <i>TP53</i> mutations, chromosomal aneuploidy, or both‡	199 (13)	Complex karyotype (68), -5/5q (47), -7/7q (44), <i>TP53</i> (44), -17/17p (31), -12/12p (17), +8/8q (16)
AML with inv(16)(p13.1;q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i>	81 (5)	inv(16) (100), <i>NRAS</i> (53), +8/8q (16), +22 (16), <i>KIT</i> (15), <i>FLT3</i> ^{TKD} (15)
AML with biallelic <i>CEBPA</i> mutations	66 (4)	<i>CEBPA</i> ^{biallelic} (100), <i>NRAS</i> (30), <i>WT1</i> (21), <i>GATA2</i> (20)
AML with t(15;17)(q22;q12); <i>PML-RARA</i>	60 (4)	t(15;17) (100), <i>FLT3</i> ^{ITD} (35), <i>WT1</i> (17)
AML with t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i>	60 (4)	t(8;21) (100), <i>KIT</i> (38), -Y (33), -9q (18)
AML with <i>MLL</i> fusion genes; t(x;11)(x;q23)§	44 (3)	t(x;11q23) (100), <i>NRAS</i> (23)
AML with inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2); <i>GATA2, MECOM(EVI1)</i>	20 (1)	inv(3) (100), -7 (85), <i>KRAS</i> (30), <i>NRAS</i> (30), <i>PTPN11</i> (30), <i>ETV6</i> (15), <i>PHF6</i> (15), <i>SF3B1</i> (15)
AML with <i>IDH2</i> ^{R172} mutations and no other class-defining lesions	18 (1)	<i>IDH2</i> ^{R172} (100), <i>DNMT3A</i> (67), +8/8q (17)
AML with t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i>	15 (1)	t(6;9) (100), <i>FLT3</i> ^{ITD} (80), <i>KRAS</i> (20)
AML with driver mutations but no detected class-defining lesions	166 (11)	<i>FLT3</i> ^{ITD} (39), <i>DNMT3A</i> (16)
AML with no detected driver mutations	62 (4)	
AML meeting criteria for ≥2 genomic subgroups	56 (4)	

* Genes with a frequency of 15% or higher are shown in descending order of frequency. Key contributing genes in each class are shown in boldface type.

† Classification in this subgroup requires one or more driver mutations in *RUNX1*, *ASXL1*, *BCOR*, *STAG2*, *EZH2*, *SRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1*, *ZRSR2*, or *MLL*^{PTD}. In the presence of other class-defining lesions — namely, inv(16), t(15;17), t(8;21), t(6;9), *MLL* fusion genes, or complex karyotype or driver mutations in *TP53*, *NPM1*, or *CEBPA*^{biallelic} — two or more chromatin-spliceosome mutations are required.

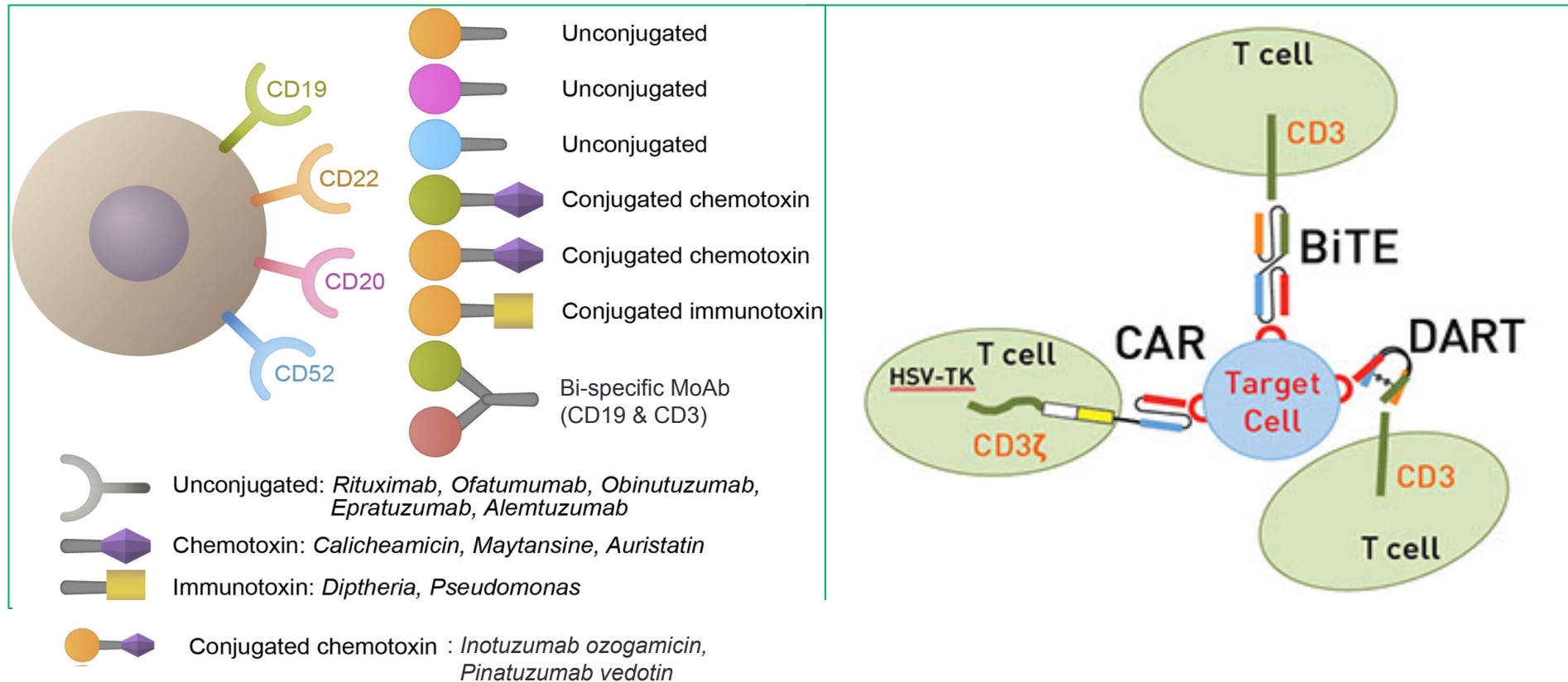
‡ Classification in this subgroup requires *TP53* mutation, complex karyotype, or in the absence of other class-defining lesions, one or more of the following: -7/7q, -5/5q, -4/4q, -9q, -12/12p, -17/-17p, -18/18q, -20/20q, +11/11q, +13, +21, or +22.

§ Multiple fusion partners for *MLL* were found, with the clinical implications depending on the specific fusion partner.



Immunotherapy in ALL: a rapidly evolving field

✓ Antibodies, ADCs, immunotoxins, BiTEs, DARTs, CAR-T cells^{1,2}

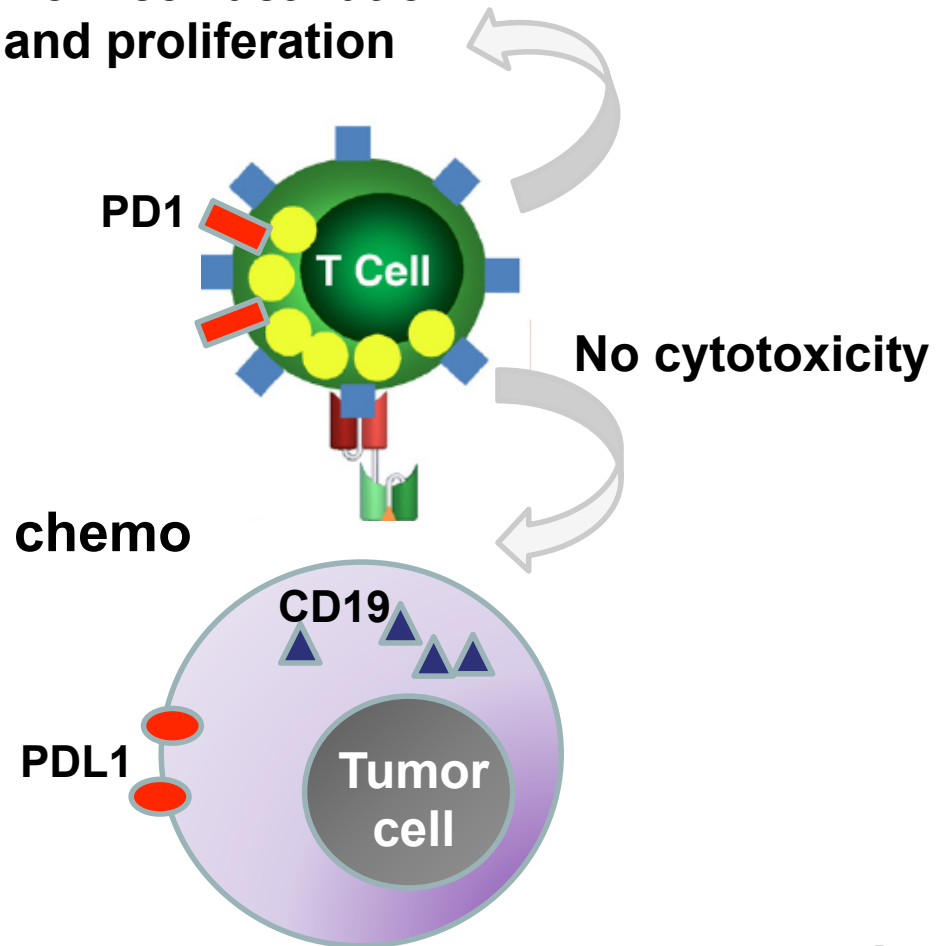


Adapted from Jabbour. *Blood* 2015;125:4010

Resistance to Blinatumomab

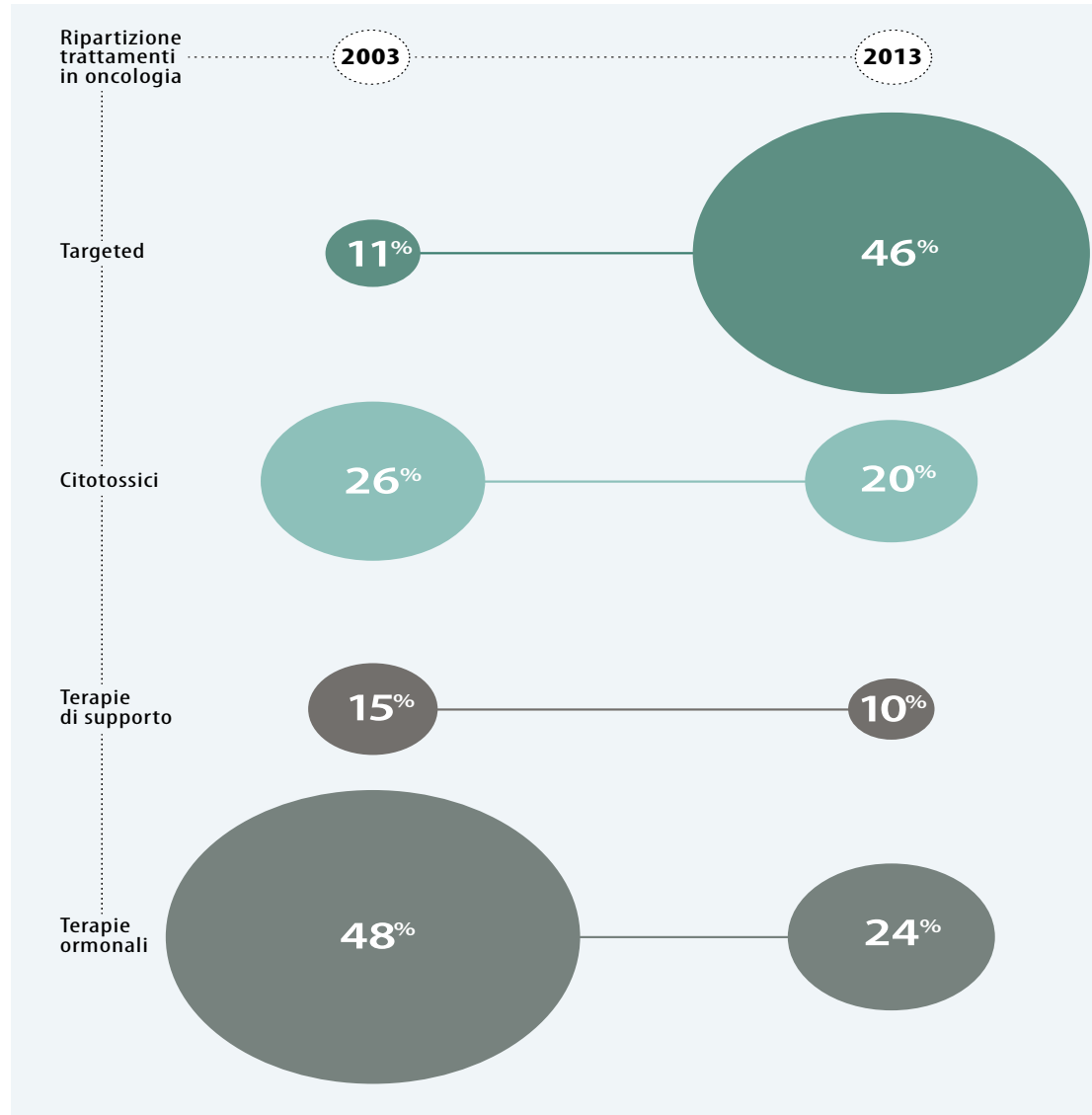
- High checkpoint inhibitors
- Loss of surface CD19
- Presence of Treg
- Intrinsic T cell defect due to chemo
- Extramedullar disease

No T cell activation
and proliferation

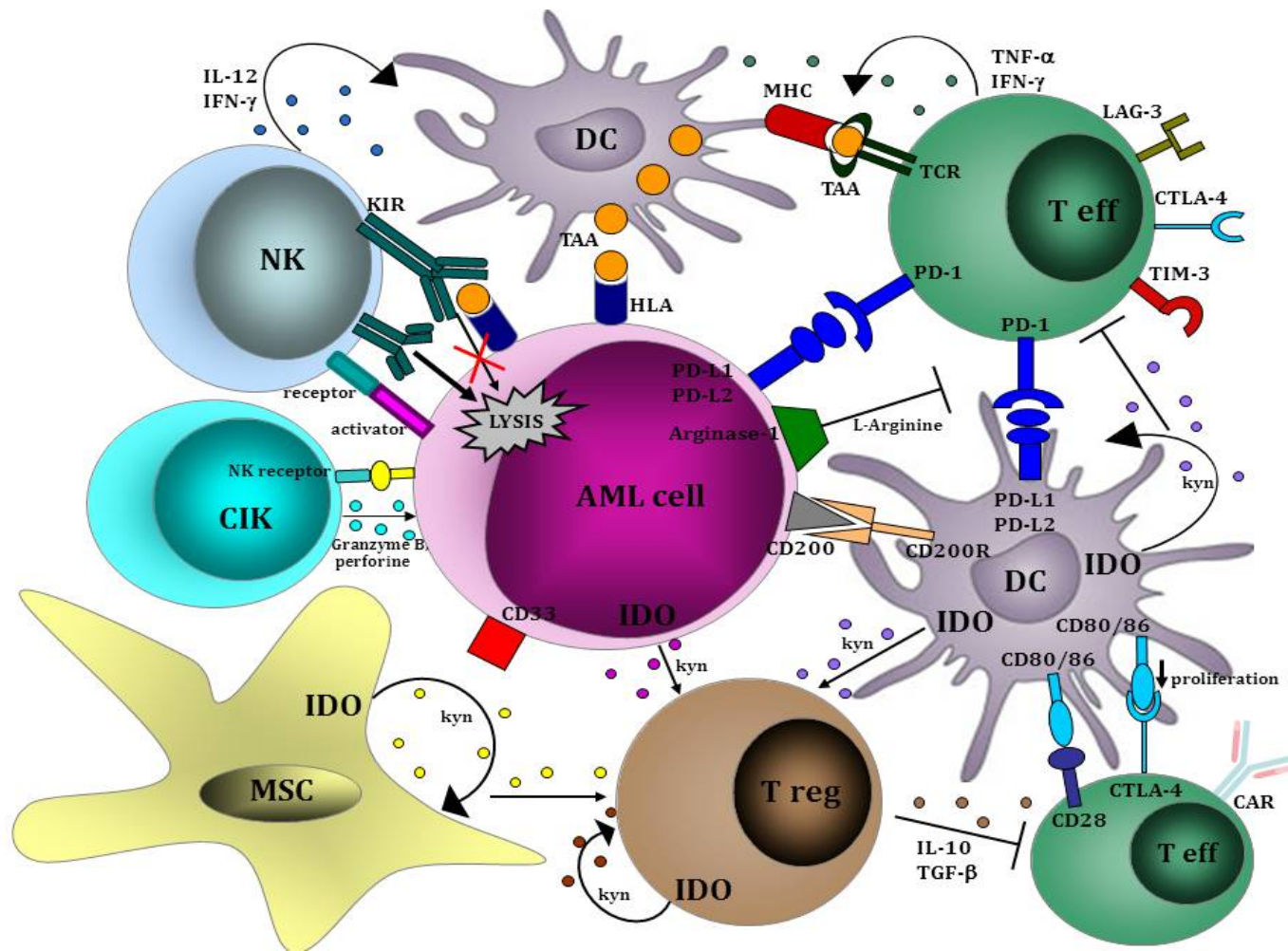




Oncologia: punta più avanzata della medicina di precisione



AML and immunological microenvironment: activation vs tolerance





Onco-ematologia: applicazioni

LEUCEMIE ACUTE

patologie eterogenee dal punto di vista genomico

Approccio personalizzato applicabile a:

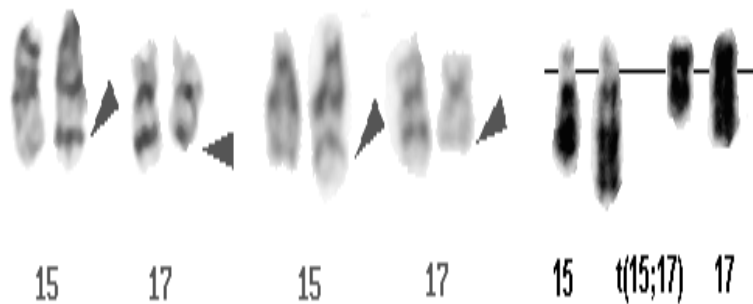
DIAGNOSI → es LEUCEMIA ACUTA LINFOBLASTICA

CLASSIFICAZIONE → es LEUCEMIA ACUTA MIELOIDE

TERAPIA → es LEUCEMIA ACUTA PROMIELOCITICA

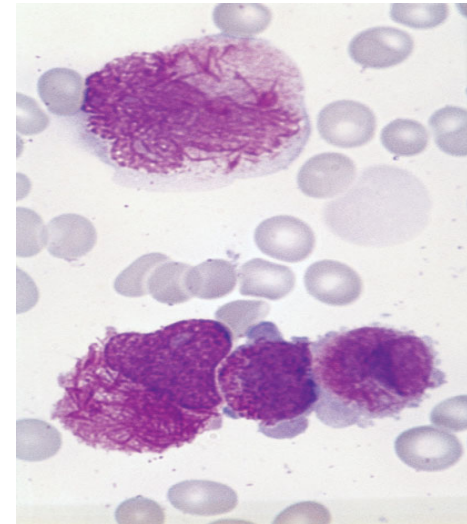
Implicazione terapeutica: Leucemia Acuta Promielocitica

$t(15;17)(q22;q21)$



Gene di fusione

PML-RAR α



Promielociti che contengono grossolani granuli azurofili e ammassi di corpi o bastocelli di Auer.

I granuli contengono e liberano sostanze ad attività proteolitica, fibrinolitica o procoagulante



New approaches for clinical trials:

1. **Basket clinical trials:** Groups patients whose cancers contain the same genetic change (regardless of cancer type) and gives them all the same drug that targets this genetic change.
2. **Umbrella clinical trials:** Groups patients with the same cancer type, but gives them different drugs, matched to the genetic changes of each of their tumours.



La Medicina di Precisione: le sfide

5-Applicare l'approccio di Medicina di Precisione alla realtà medica quotidiana

- Una delle principali sfide della medicina personalizzata è valutarne la reale **fattibilità**.
- E' possibile per ogni centro e ospedale avere accesso alla tecnologia necessaria per studiare il genoma di ogni paziente?
- I ricercatori, i fornitori di servizi sanitari e i responsabili delle politiche dovranno collaborare per affrontare queste importanti sfide mentre la medicina personalizzata continua ad andare avanti.





La Medicina di Precisione: le sfide



4-Disegnare trials clinici per sperimentale al meglio i nuovi farmaci

- Attualmente, **nuovi trattamenti** contro il cancro sono inizialmente testati su pazienti con **tumori avanzati** in cui tutte le altre opzioni di trattamento hanno fallito.
- Nella comunità di ricerca c'è crescente accettazione che i farmaci per la medicina personalizzata debbano essere testati prima che il cancro si sia evoluto così tanto. Questo significa dare il **farmaco giusto al paziente giusto al momento giusto**.
- Ciò potrebbe richiedere il monitoraggio dei cambiamenti genetici che si verificano nel cancro nel tempo. Con lo sviluppo di **biopsie liquide**, è possibile esaminare il DNA del tumore all'interno di campioni di sangue. Questa nuova tecnologia consentirebbe ai medici di monitorare in modo non invasivo i cambiamenti genetici del cancro nel tempo e contribuire a influenzare il processo decisionale del trattamento. Potrebbe anche aiutare a formare la base di nuovi studi clinici.



Studio a ombrello e studio a canestro

Una volta disponibili i marcatori, si procede con:

studio a ombrello (*umbrella trial*): i pazienti con un tipo di tumore (cioè con lo stesso organo d'origine) sono esaminati per la presenza di una serie di biomarcatori e su questa base allocati ai bracci di trattamento con i farmaci corrispondenti (ciascun farmaco è accoppiato allo specifico biomarcatore).

studio a canestro (*basket trial*): i pazienti sono reclutati solo sulla base delle caratteristiche molecolari, e quindi anche tumori che hanno origine in organi diversi possono essere allocati negli stessi bracci di trattamento.



Introduzione

- La richiesta di **farmaci efficaci e privi di tossicità** è una priorità della ricerca farmaceutica. I farmaci rappresentano prodotti industriali che devono soddisfare i requisiti che la società pone per garantire la propria salute ed il proprio sviluppo sociale ed economico. Per questa ragione devono essere **efficaci su ogni persona e soprattutto non devono causare eventi avversi o indurre rischi di patologia diversa da quella per cui il paziente viene trattato.**
- L'obiettivo principale della ricerca farmaceutica è l'innovazione della terapia attraverso **la scoperta e lo sviluppo di nuovi composti in grado di assicurare un beneficio incrementale per il paziente e/o la sanità.**