

CZECRIN Vědecká výroční konference
FNUSA-ICRC 9.6.2022



M U N I
M E D

MONOCENTRICKÁ ZKUŠENOST S AUTOLOGNÍ VAKCÍNOU Z DENDRITICKÝCH BUNĚK

E.Hlaváčková

Klinika dětské onkologie, FN Brno, Brno
Farmakologický ústav, ACIU, LFMU, Brno

Imunoterapie nádorů



DC

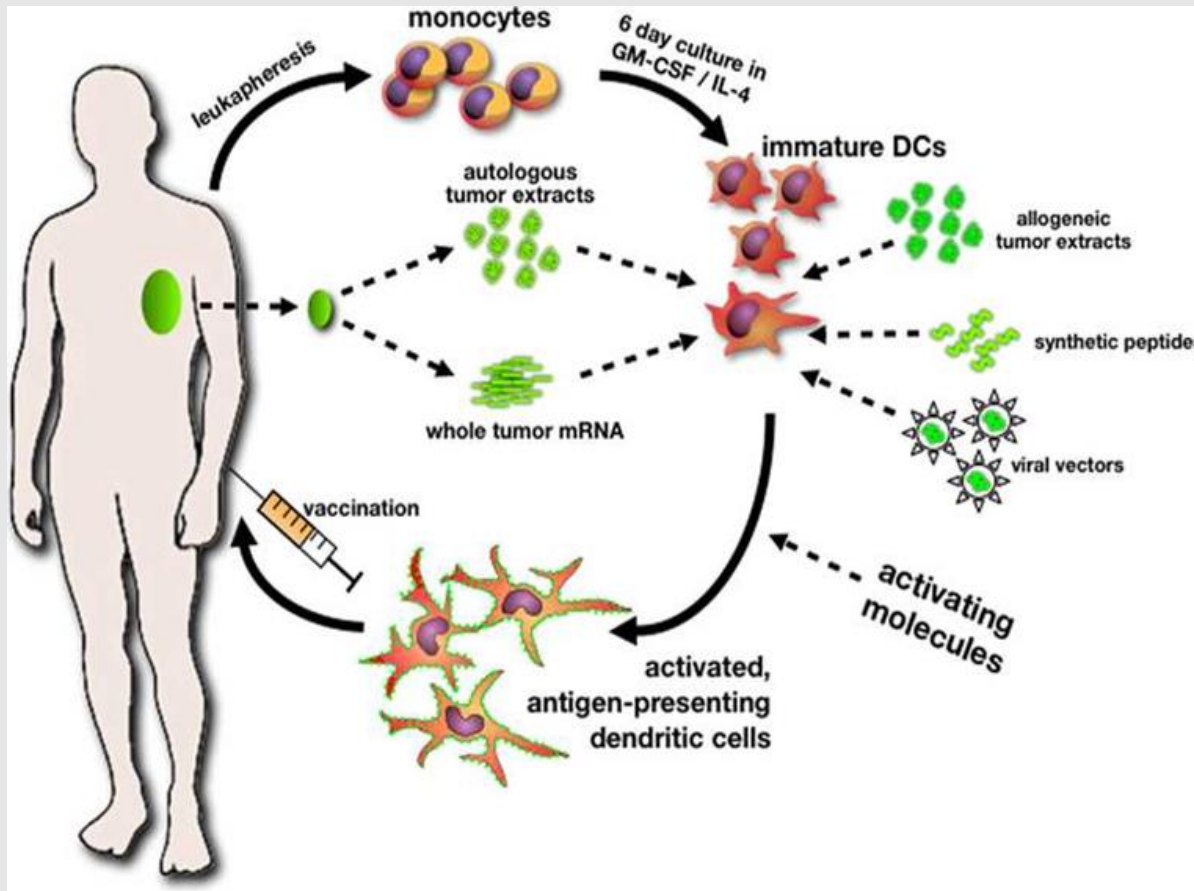
T cell

- Checkpoint inhibitory
- Biologika
- Malé molekuly

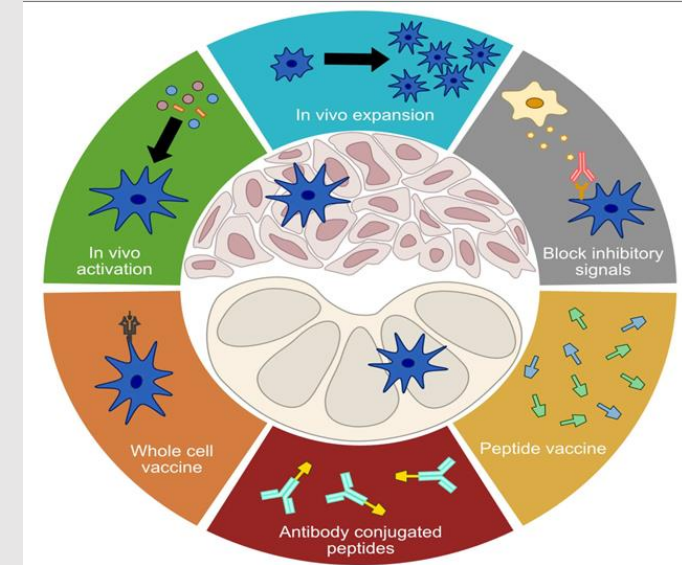
Adaptivní celulární terapie

- CAR T
- DC vakcíny**
- TIL

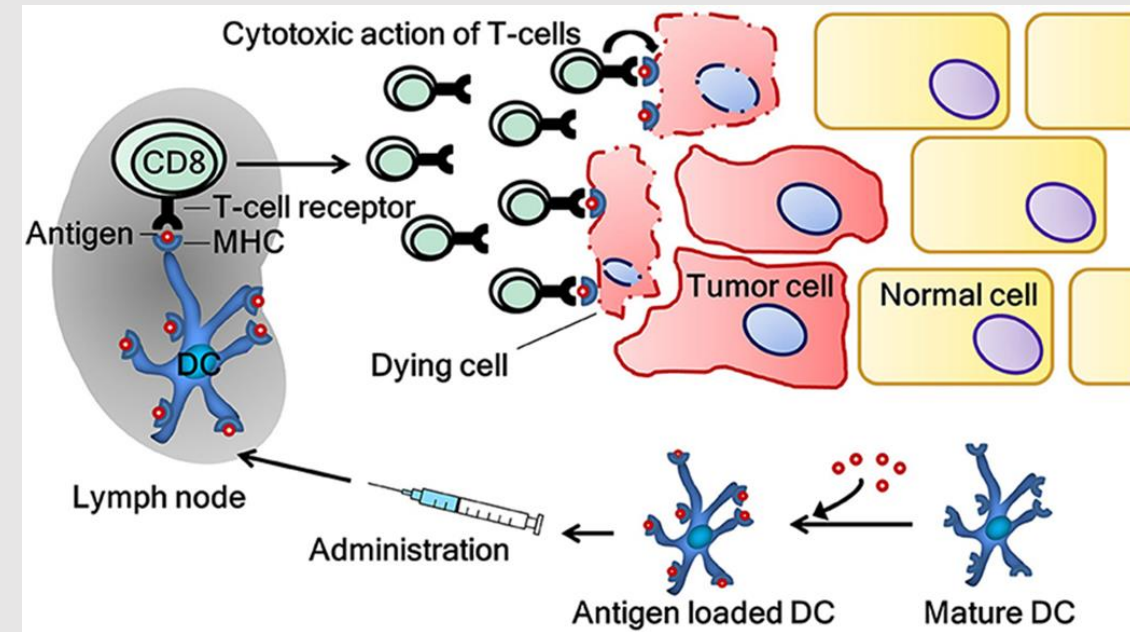
Autologní DC vakcína



<https://www.creative-biolabs.com/blog/vaccine/personalized-cancer-vaccine-melanoma-treatment-vaccine-tlpldc-reduces-the-risk-of-recurrence-by-50/>

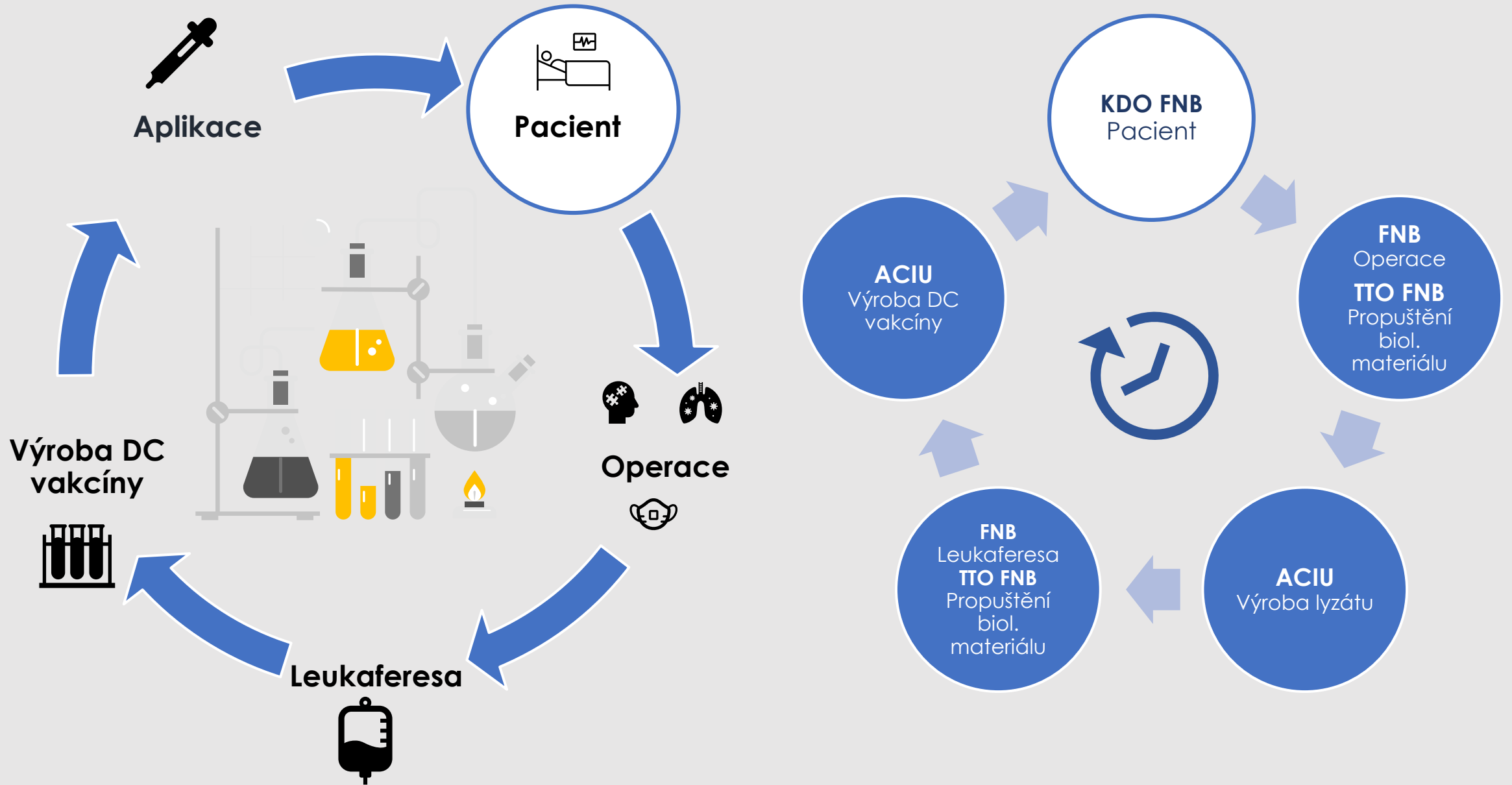


Dendritic Cells and Their Role in Immunotherapy | Semantic Scholar



Frontiers | Dendritic Cell Cancer Therapy: Vaccinating the Right Patient at the Right Time | Immunology (frontiersin.org)

Výroba autologní DC vakcíny



Výroba DC Vakcíny GMP GCP podmínky

- Ex vivo semimaturované autologní dendritické buňky (smDC) diferencované z monocytární leukaferetické frakce pulsované nádorovým lyzátem

Výroba nádorového lyzátu

Odběr tkáně tumoru

Fragmentace

Centrifugace

Lyza v hypotonickém roztoku

Zamražení -150C



Leukaferesa

Separace monocytární frakce - elutra/adherence

Inkubace monocytů IL4 GMCS

Semimaturace DC LPS INFgamma

Kontrola kvality QC

Pulzace nezralé DC tum. lyzátem

Kryoprezervace

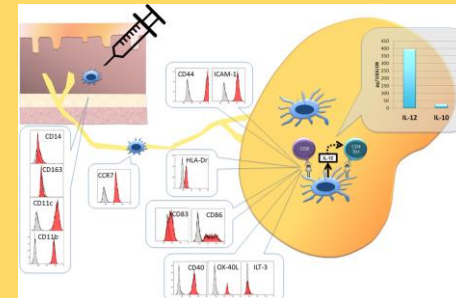


Vakcína:

Dávka $1-5 \times 10^6$ ve $100 \mu\text{l}$ á 3 týdny +/- 7 dní

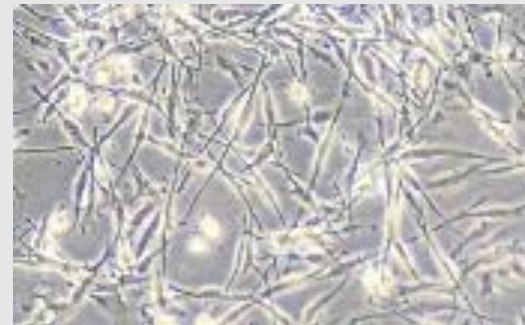
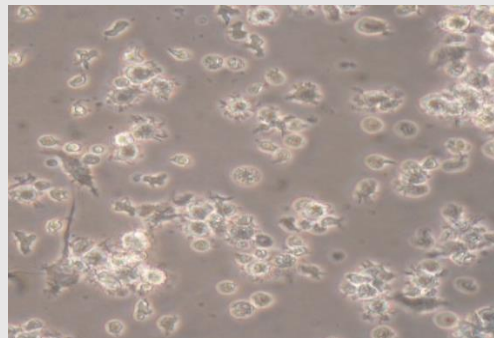
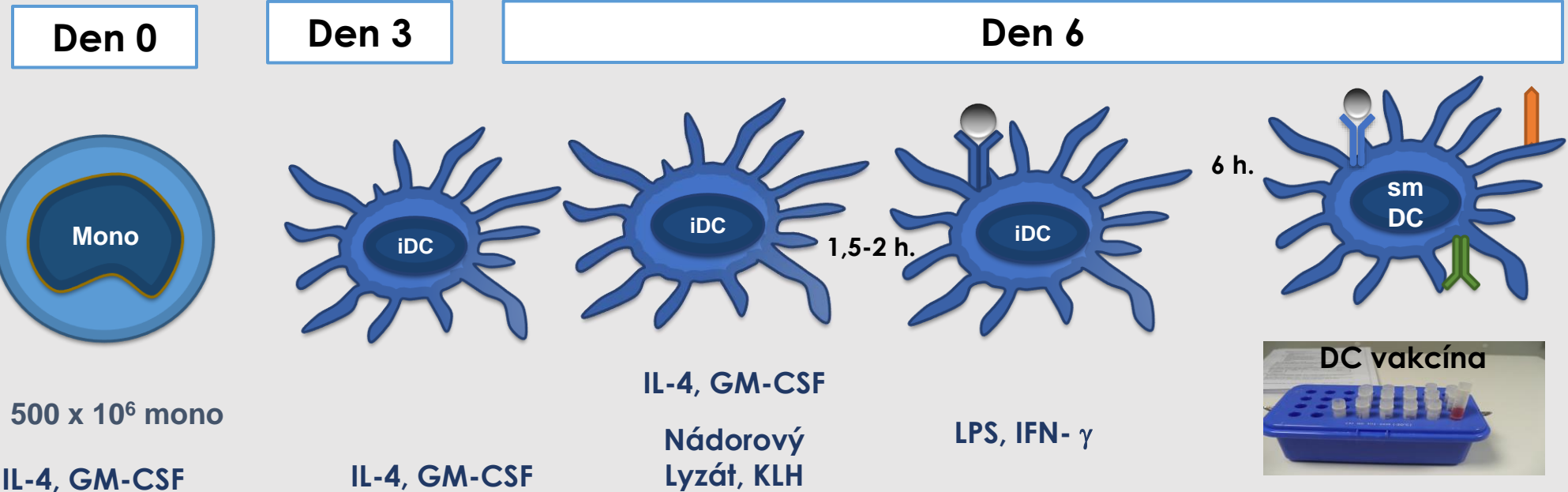
Intradermálně 2cm od spádové uzliny na HKK

Aplikace Imiquimodu



Výroba DC vakcíny

Diferenciace nezralých DC z monocytů
Pulzace DC nádorovým lyzátem
Diferenciace semimatureovaných smDC



Imunofenotyp DC:

CD14 – monocytů

HLA-DR (MHC II) – aktivační znak

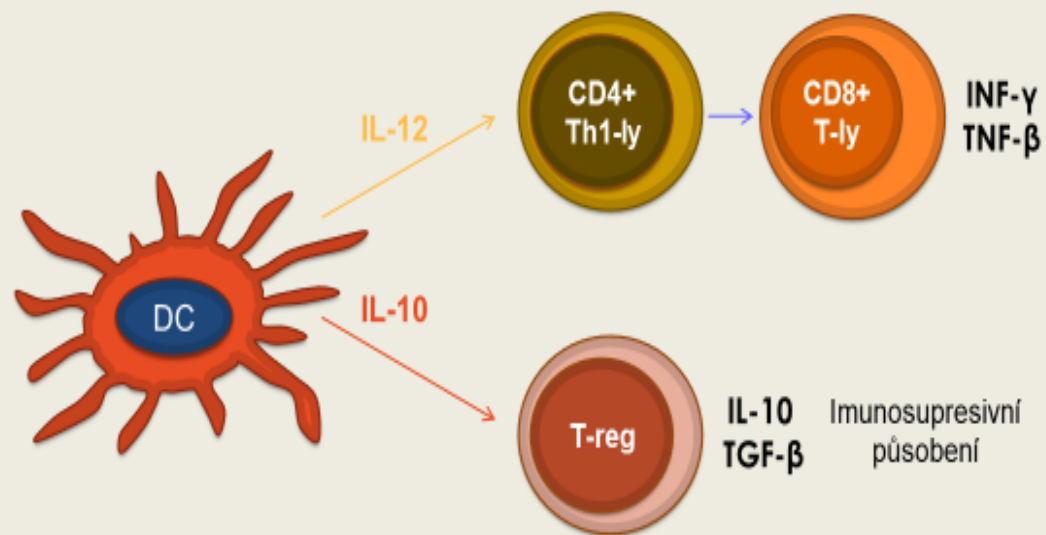
CD80 – kostimulační molekula

CD86 – kostimulační molekula

CD83 – maturační znak

Kontrola kvality QC

Stimulační, inhibiční cytokiny



allo a auto MLR

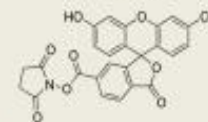
- schopnost DCs aktivovat alogenní a autologní T-lymfocyty k proliferaci

Allo MLR: PBMCs z buffy coatu

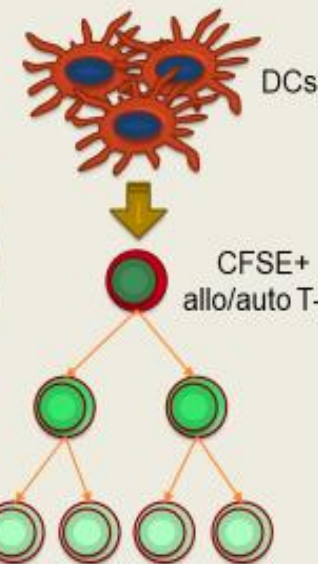


Auto MLR: T-ly z leukaferézy

Obarvení CFSE
(Carboxyfluorescein succinimidyl ester)



Kultivace



KDO DC 1311

KH KDO-DC131

EUDRACT NUMBER 2014-003388-39

Klinická fáze I/II

EK FNB 2/15

SUKL 3/15

Nábor 9/15-1/20

Ukončení 12/24

Monocentrická, otevřená, jednoramenná studie proveditelnosti
Feasibility study Phase I/II, Single-arm, Open-label

KOMBINOVANÁ PROTINÁDOROVÁ TERAPIE

S EX VIVO MANIPULOVANÝMI DENDRITICKÝMI BUŇKAMI PRODUKUJÍCÍMI INTERLEUKIN-12

U DĚTSKÝCH, ADOLESCENTNÍCH A MLADÝCH DOSPĚLÝCH PACIENTŮ

**S PROGREDUJÍCÍMI, RELABUJÍCÍMI NEBO PRIMÁRNĚ METASTATICKÝMI MALIGNITAMI
VYSOKÉHO RIZIKA**

Primární a sekundární cíle

Primární cíl :

a) **proveditelnost a bezpečnost**

b) primární kombinovaný cíl **bezpečnost a četnost výskytu AESI**

Sekundární cíle:

a) stanovením doby do progresu

b) stanovením celkového přežití

c) zhodnocením objektivní léčebné odpovědi (RECIST)

d) zhodnocením CBR (clinical benefit rate)

Sekundární bezpečnostní cíle:

Deskriptivní zhodnocení frekvence výskytu, závažnosti a typů všech zjištěných AE.

Vstupní kritéria

- Věk **1 - 25 let**
- **Podepsaný IS** se vstupem do klinického hodnocení
- Histologicky potvrzená **diagnóza refrakterního nebo relabujícího nebo primárně metastatického solidního nádoru vysokého rizika** dětského typu léčeného podle standardních postupů.

- Onemocnění s očekávaným **pětiletým přežitím < 25%**

- **Performance stav**

Karnofského score ≥ 50 pro pacienty > 10 let

Lansky score ≥ 50 pro pacienty ≤ 10 let.

- Očekávaná délka **přežití ≥ 10 týdnů.**

Délka studie

- Délka **náborového období 48 měsíců**
- Délku **účasti subjektu hodnocení ve studii:**
screeningové fáze (max -70 týdnů) + délka trvání léčebné + FU fáze
maximálně 5 let od zahájení léčby ve dni D0
- **Maximální plánovaná délka trvání celého klinického hodnocení**
48 měsíců náborového období
+
maximální možná délka účasti subjektu

Dávka a aplikace

Dávka :

- **smDC 1-5 x 10⁶** ve 100μl kryoprezervačního media

Indikace:

- **add-on therapy** ke standardní léčbě daného nádorového onemocnění.

Aplikace:

- **Imiquimod (Aldara agonista IL7a IL8) adjuvants** 2 cm² na místo vakcinace

(večer před aplikací a následující dva večery po aplikaci)

- **intradermálně** do oblasti horní končetiny vzdálené 2-5 cm od nejbližší lymfatické spádové uzliny
- první aplikace vakcíny den 0
- třítýdenním intervalu (+/- 7 dnů)



FU

EoT

3 +/- týdny od poslední aplikace

FU visits

- 12 ± 2 týdnů (v 1. a 2 roce od zahájení léčby)
- 4 měsíce ± 2 týdny (ve 3. roce od zahájení léčby)
- 6 měsíců ± 2 týdny (ve 4. a 5. roce od zahájení léčby)

- OA x komorbidita x performance status(Lansky/Karnofsky)
- Laboratorní vyšetření(imuno hemato bioch)
- Zobrazovací metody
- Zhodnocení AE

Diagnosy

- **Diagnóza refrakterního nebo relabujícího nebo primárně metastatického solidního nádoru vysokého rizika dětského typu**
- **Pravděpodobnost pětiletého přežití 25%**

- HR NBL
- Meduloblastom
- Osteosarkom
- Ewing sarkom
- Rhamdomyosarkom
- CNS tumory (glioblastoma multiforme, ATRT...)
- .
- ,
- .

Vakcinace

KDO DC 13 11

- *EUDRACT NUMBER 2014-003388-39*
- *SUKL 3/15 Nábor 9/15-1/20*
- Počet zařazených pacientů 51
- Počet vakcinovaných pacientů 25
- AE zarudnutí v místě vpichu
- SAE nesouvisející se studiovou medikací
- Vakcinuje: 0
- Ukončena vakcinace z důvodu vyčerpání počtu dávek 16
- Ukončena vakcinace pro progresi základního onemocnění 9
- FU in cursu 5
- Ukončen FU 1

Výroba DC vakcíny

Limitace výroby

Tumorosní lyzát

- **Nenádorová tkáň**
- Nízké zastoupení nádorové tkáně
- Vysoké **procento proteinu v lyzátu**
- Korpuskulární **charakter lyzátu** (kostní/chrupavčitá složka)

Leukaferetický produkt

- Nevýtěžná leukaferesa

Nesplnění kritérií QC

- Nízký poměr **IL12/IL10**
- Nízká **exprese CD38**

Vliv medikace

- Temozolomid a iridotekan
↓Maturace DC
↓Imunostimulační schopnosti DC
- Pazopanib topotecan
MTD cyklofosfamid
↓Diferenciace DC
↓Imunostimulační schopnosti DC

Limitace léčby

- Malignity **vysokého rizika**
- **Relabované x metastatické** malignity
- Silně **předléčený pacient**
- Různé **fáze léčby**
- **Exhaustovaný imunitní systém**

Výhled do budoucna ...

- **Stratifikace protokolární léčby** dle diagnosy a stadia onemocnění
- Možnost **odběru tkáně v časnějším stadiu** nemoci
- Možnost **aplikace léčiva v časnějším stadiu** nemoci
- **Kryoprezervace** leukaferetického produktu
- Způsob **pulsace DC**

Děkuji vám za pozornost

KDO FN Brno

Prof. MUDr J. Štěrba PhD.

Prim P. Múdrý PhD.

MUDr. Z. Pavelka

MUDr P. Mazánek

Bc L. Fberová

Bc. L. Červinková

Bc. M. Mařadková

 **FAKULTNÍ
NEMOCNICE
BRNO**

ACIU FU LF MU

Doc MUDr. R. Demlová PhD.

Prof. MUDr. D Valík PhD..

Doc. RNDr.L.Zdražilová-Dubská PhD.

Ing. L. Flajšarová

Mgr K. Černá-Pilátová PhD.

Mgr J. Kubátová PhD.

Mgr L. Jurečková

Mgr T. Kaško

Mgr A. Kubíčková

**M U N I
M E D**