

Il Programma Italia-USA sulla terapia dei tumori

C. Peschle (*)

E' forse lecito affermare che una delle intuizioni più felici del Prof. F. Pocchiari è stata quella di considerare l'Istituto Superiore di Sanità come ente di coordinamento e finanziamento della ricerca biomedica nazionale, a somiglianza di altri prestigiosi enti in USA - National Institute of Health (NIH) - ed Europa (Medical Research Council, INSERM, ecc.).

La prima realizzazione concreta di tale intuizione è rappresentata dal Programma Cooperativo Italia-USA sulla Terapia dei Tumori. In effetti, il Programma viene gestito dal nostro Istituto, che promuove, coordina e finanzia progetti di ricerca intra- ed extra-murali in questo settore della ricerca biomedica, avvalendosi della consulenza di una Commissione Nazionale *ad hoc* che comprende i massimi esperti italiani in materia e personalità scientifiche eminenti del National Cancer Institute (NCI) e del NIH. Il Programma è focalizzato sui trattamenti anti-tumoriali innovativi con citochine e linfociti citotossici: appare quindi opportuno descrivere in qualche dettaglio le basi scientifiche ed i risultati ottenuti sinora in questa area di ricerca.

I tumori maligni rappresentano una delle maggiori cause di mortalità in gran parte delle popolazioni del globo terrestre. Le attuali terapie anti-tumoriali (chirurgica, radiante e chemio-terapica) hanno una efficacia documentata in circa il 50% dei pazienti affetti da neoplasie [1-3]. Sono altresì in corso gli studi che mirano a valutare una nuova metodica terapeutica, basata sull'impiego di agenti biologici. In tale settore i maggiori sforzi sono stati rivolti allo sviluppo di immunoterapie anti-tumoriali, che si fondano sulla capacità di stimolare i meccanismi fisiologici di difesa anti-neoplastica [4].

I primi approcci di immunoterapia anti-tumorale sono stati basati sulla somministrazione di sostanze batteriche (ad es. il bacillo di Calmette-Guerin) ad individui affetti da neoplasie, nella speranza che la risposta immune indotta dai

(*) Direttore del Laboratorio di Ematologia ed Oncologia.

batteri potesse avere anche effetto contro le cellule tumorali. Tuttavia, questi tentativi terapeutici hanno offerto successi molto limitati e sono stati quindi abbandonati.

Più recentemente è stato osservato che la interleuchina-2 (IL-2, una linfocina di 15.000 Da secreta da T linfociti "helper" attivati, che agisce da fattore di crescita per i linfociti T) potenzia considerevolmente il potere citotossico anti-tumorale dei linfociti [5-7]. Il clonaggio del gene dell'IL-2, e quindi la produzione di grandi quantità di IL-2 pura con tecniche di DNA ricombinante [5-7], ha permesso l'introduzione di un nuovo tipo d'immunoterapia anti-tumorale, definita immunoterapia adottiva [8-9]. Questo trattamento è basato sul principio di trasferire ad un ospite affetto da tumore cellule con attività anti-neoplastica, che esercitano un'azione citolitica diretta o indiretta (ad esempio, secrezione di citochine ad azione anti-tumorale).

La fase sperimentale di messa a punto di una immunoterapia adottiva è stata affrontata da Rosenberg *et al.* presso il NCI, a partire dal 1980 [8-10]. Inizialmente fu dimostrato che linfociti umani o murini quiescenti, incubati con IL-2 *in vitro*, generano linfociti "killer" attivati (cellule LAK): queste sono in grado di lisare *in vitro* cellule tumorali autologhe ed eterologhe, ma non cellule normali. Successive indagini hanno indicato che le cellule LAK sono rappresentate essenzialmente da linfociti naturali "killer" (NK) che, in seguito all'attivazione da IL-2, acquisiscono la capacità di lisare un ampio spettro di cellule tumorali. E' stato altresì dimostrato che le cellule LAK possono indurre la regressione di tumori in modelli animali, se vengono somministrate insieme a IL-2.

La sperimentazione clinica con IL-2 e cellule LAK è avvenuta in due fasi diverse. La prima fase (1980-84) [8, 9] è consistita nel valutare gli effetti dell'infusione di IL-2 o di cellule LAK. Nelle indagini iniziali furono somministrati linfociti stimolati *in vitro* con fitoemagglutina (PHA). I pazienti sopportavano senza effetti collaterali notevoli l'infusione di 10^9 - 10^{10} linfociti, ma non veniva riscontrato alcun effetto anti-tumorale. Risultati simili furono ottenuti dopo infusione di linfociti attivati *in vitro* con IL-2. In parallelo, fu valutato l'effetto della somministrazione di IL-2, dapprima prodotta in colture cellulari e poi di tipo biosintetico ricombinante. Non furono riscontrati effetti anti-tumorali: ma in questa serie di *trials* venivano infuse dosi relativamente basse, che peraltro inducevano scarsi effetti collaterali.

A partire dal 1984 ha avuto inizio la seconda fase di studio, che prevedeva un protocollo d'immunoterapia combinata con IL-2 a dosi elevate e cellule LAK [10, 11]. Il protocollo era così concepito: durante la prima settimana i pazienti venivano sottoposti a tre infusioni quotidiane a *bolus* di IL-2, in ragione di 10^6 U/kg di peso corporeo. Dopo due giorni di riposo terapeutico venivano eseguiti 4 o 5 cicli di leucaferesi: le cellule linfocitarie ottenute venivano coltivate *in vitro* in presenza di 2×10^3 U di IL-2 e dopo tre giorni erano reinfuse nel paziente insieme ad IL-2. I risultati complessivi relativi a 221 pazienti con tumori in fase

metastatica avanzata possono essere così riassunti: 16 pazienti hanno presentato una remissione completa delle lesioni tumorali; 26 soggetti hanno dimostrato una remissione parziale (con riduzione > 50% della massa tumorale); gli altri pazienti hanno presentato solo regressioni di entità inferiore o non hanno risposto al trattamento. I pazienti che hanno risposto in maniera positiva erano in larga parte affetti da carcinoma renale o melanoma, talora da carcinoma coloretale o linfoma "non-Hodgkin".

In parallelo, numerosi gruppi statunitensi hanno confermato tali risultati, utilizzando protocolli simili a quello messo a punto presso il NCI [12], talora modificato per l'adozione di una infusione continua di IL-2 [13].

Questa prima serie di esperienze ha anche indicato che l'immunoterapia con IL-2 e cellule LAK è associata ad un elevato grado di tossicità, che può essere efficacemente controllata in unità di terapia intensiva. Gran parte degli effetti collaterali possono essere ricondotti ad una sindrome da aumentata permeabilità capillare, che induce ritenzione idrica, ipotensione e disfunzione di vari organi. Gli effetti collaterali regrediscono rapidamente dopo interruzione della somministrazione di IL-2.

La percentuale di pazienti che risponde a questo protocollo di immunoterapia è ancora relativamente bassa. Tuttavia, i risultati ottenuti rivestono un'importanza assai considerevole, per due basilari considerazioni: a) gli effetti terapeutici sono stati osservati in pazienti affetti da neoplasie in stadio avanzato, non più responsive alle terapie convenzionali (chirurgica e chemio-radio-terapica); b) il solo trattamento con immunoterapia, senza ricorso a farmaci antitumorali, ha indotto la regressione tumorale.

Attualmente sperimentazioni cliniche con IL-2 e cellule LAK sono in corso in Italia, in gran parte sotto l'egida del Programma "Terapia dei Tumori". In particolare, uno studio in tal senso è iniziato a Roma in collaborazione fra la Prima Divisione di Oncologia Medica dell'Istituto Regina Elena (Prof. F. Calabresi) ed il Laboratorio di Ematologia ed Oncologia dell'Istituto Superiore di Sanità. I risultati preliminari, in 5 soggetti con melanoma o carcinoma renale metastatizzato trattati con dosaggi ottimali di IL-2, dimostrano un caso di remissione parziale ed uno di remissione subtotale, confermando i risultati di Rosenberg *et al.*

Va segnalato che, negli Stati Uniti come in Europa, sono altresì in corso *trials* clinici a carattere innovativo con IL-2 e/o cellule LAK, che mirano a potenziare gli effetti anti-tumorali di tale approccio terapeutico. Fra i nuovi protocolli vanno segnalati quelli che prevedono: a) l'infusione continua di IL-2, da sola o in associazione con cellule LAK, per via intra-arteriosa a livello del distretto tumorale (un *trial* di infusione di IL-2 nell'arteria epatica di pazienti con carcinomi epatici è stato iniziato in collaborazione dall'Istituto Regina Elena e dal nostro Istituto); b) infusione di IL-2, da sola o in associazione con cellule LAK, per via intralinfatica e/o in sede peritumorale; c) protocolli combinati con IL-2 e polichemioterapia antitumorale (abbiamo recentemente varato un proto-

coblo di questo tipo, con risultati preliminari oltremodo incoraggianti in tre pazienti con microcitoma polmonare o sarcoma di Ewing); d) protocolli combinati con IL-2 ed altre citochine ricombinanti (ad esempio, un protocollo con IL-2 e interferone alfa₂ è stato da noi iniziato nei melanomi e nelle neoplasie renali); e) infusione di IL-2 e linfociti infiltranti i tumori (TIL), espansi *in vitro* in presenza di IL-2 [14, 15].

In conclusione, le sperimentazioni cliniche finora condotte con IL-2 e cellule LAK indicano che una stimolazione del potere anti-tumorale del sistema immune può indurre una regressione, talora completa, di tumori in stadio avanzato. Questo approccio terapeutico è attualmente in fase sperimentale. Pertanto, appare necessario proseguire gli studi sui protocolli clinici di Rosenberg *et al.*, sia al fine di precisare i meccanismi del relativo effetto anti-neoplastico, sia nell'intento di modulare e potenziare il protocollo attuale, sia infine per tentare di estenderne l'applicazione ad altri tipi di tumore. Ancor più importante è promuovere approcci innovativi di citochino-immuno-terapia, quali quelli su accennati, su basi sperimentali rigorosamente controllate e secondo un iter puntualmente verificato ed approvato da organi scientifici ufficialmente preposti all'uopo.

E' lecito sperare che le nuove terapie anti-tumorali possano fornire negli anni '90 un contributo decisivo all'eradicazione delle neoplasie refrattarie ad altri trattamenti. In questo quadro generale, il Programma Italia-USA sulla terapia dei tumori rappresenta un momento di rilevanza significativa, a livello nazionale ed internazionale, oltre che una testimonianza basilare dell'impegno morale, della capacità manageriale e della lungimiranza ideativa del Prof. Francesco Pochiari.

BIBLIOGRAFIA

1. DE VITA, V.T. 1983. Progress in cancer management: key note address. *Cancer* 51: 2401-2409.
2. DE VITA, V.T., HELLMAN, S. & ROSENBERG, S.A. 1985. *Cancer: principles and practice of oncology*. J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
3. BAILAR, J.C.III & SMITH, E.M. 1986. Progress against cancer. *N. Engl. J. Med.* 314: 1226-1232.
4. GREENBERG, P.D. 1987. Tumor immunology. In: *Basic and clinical immunology*. D.P. Stiles, J.D. Stobo & J.V. Wells (Eds). Lange, Norwalk, CA, USA. pp. 186-196.
5. TANIGUCHI, T., MATSHI, H., FUJITA, T., TAKAOKA, C., KASHIMA, N., YOSHIMOTO, R. & HAMURO, J. 1983. Isolation of a cDNA clone encoding human interleukin-2. *Nature* 302: 305-310.
6. BRANDHUBER, B.J., BOONE, T., KENNEDY, W.C. & MCKAY, D.B. 1987. Three-dimensional structure of interleukin-2. *Science* 238: 1707-1709.

7. OPPENHEIM, J.J., RUSCETTI, F.W. & FALTYNEK, C.R. 1987. Interleukin and interferons. In: *Basic and clinical immunology*. J.P. Stiles, J.D. Stobo & J.V. Wells (Eds). Lange Publ., Norwalk, CA, USA. pp. 82-95.
8. LOTZE, M.T., ROBB, R.J.R., SHARROW, S.A., FRANA, L.W. & ROSENBERG, S.A. 1984. Systemic administration of interleukin-2 in humans. *J. Biol. Response Modif.* 3: 475-482.
9. ROSENBERG, S.A. 1985. Lymphokine activated killer cells: a new approach to the cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 75: 595-602.
10. ROSENBERG, S.A., LOTZE, M.T., MUUL, L.M., LEITMAN, S., CHANG, A.E., ET-TINGHAUSEN, S.E., MATORY, Y.L., SHILONI, J.M., VETTO, J.T., SEIPP, C.A., SIMPSON, C. & REICHERT, C.M. 1985. Observation on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. *N. Engl. J. Med.* 313: 1485-1492.
11. ROSENBERG, S.A., LOTZE, M.T. & MUUL, L.M. 1987. A progress on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 or high-dose interleukin-2 alone. *N. Engl. J. Med.* 316: 889-897.
12. FISHER, R.I., COLTMAN, C.A., DOROSHOW, J.H., RAYNER, A.A., HAWKINS, M.J., MIER, J.W., WIERNIK, P., MCMANNI, J.D., WEISS, G.R., MARGOLIN, K.A., GEMLO, B.T., HOTH, D.F., PARKINSON, D.R. & PAIETTA, E. 1988. Metastatic renal cancer treated with interleukin-2 and lymphokine activated killer cells. *Ann. Intern. Med.* 108: 518-523.
13. WEST, W.H., TANER, K.W. & YANNELLY, J.R. 1987. Constant infusion of recombinant interleukin-2 in adoptive immunotherapy of advanced cancer. *N. Engl. J. Med.* 316: 898-905.
14. ROSENBERG, S.A., SPIESS, P. & LAFRENIERE, R. 1986. A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes. *Science* 233: 1318-1321.
15. ROSENBERG, S.A., PACKARD, B.S., AEBERSOLD, P.M., SOLOMON, D., TOPALIAN, S.L., TOY, S.T., SIMON, P., LOTZE, M.T., YANG, J.C., SEIPP, C.A., SIMPSON, C., CARTER, C., BOCK, S., SCHWARTZENTRUBER, D., WEI, J.P. & WHITE, D.E. 1988. Use of tumor infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in immunotherapy of patients with metastatic melanoma. *N. Engl. J. Med.* 319: 1676-1680.