



Prof. Dr. med.  
Markus G. Manz  
Zürich

Dr. med. Alexandre  
Theocharides  
Zürich

## Ausgewählte Studien aus der Hämato-Onkologie

vorgestellt und kommentiert von Prof. Markus G. Manz und Dr. Alexandre Theocharides  
Zentrum für Hämatologie und Onkologie, UniversitätsSpital Zürich

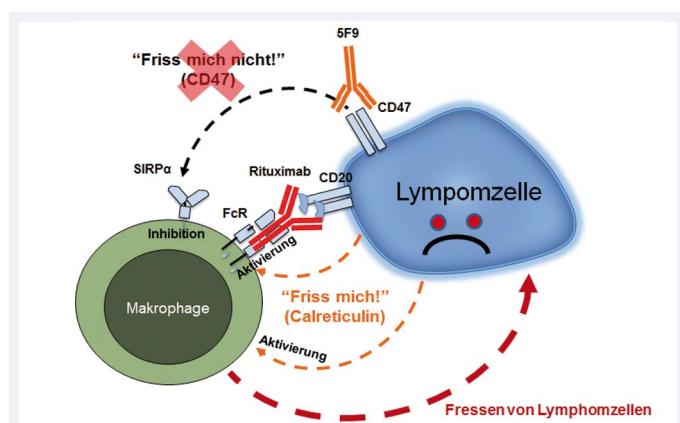
Alexandre.Theocharides@usz.ch

### CD47-SIRP $\alpha$ -Interaktion

- Die Interaktion zwischen dem ubiquitär exprimierten Antigen CD47 und dem Makrophagen-Rezeptor SIRP $\alpha$  führt zur Hemmung der Phagozytose. So können körpereigene, CD47 exprimierende Zellen von nicht-körpereigenen Strukturen durch phagozytierende Zellen, d.h. das angeborene Immunsystem unterschieden werden. Invasoren, z.B. Parasiten, die kein humanes CD47 exprimieren werden durch Phagozyten angegriffen. D.h. die CD47-SIRP $\alpha$  Interaktion führt zu einem «don't eat me» Signal an phagozytierende Zellen, welches wiederum durch ein pro-phagozytisches Signal, Calreticulin, und der Ligation von Fc-Rezeptoren auf Phagozyten gegengesteuert wird.
- Das System wird auch für physiologische Zell-Eliminationsprozesse genutzt. So kommt es z.B. bei alternden Erythrozyten zu einer Reduktion von CD47 auf der Oberfläche und konsekutiv zur Elimination durch (Milz)makrophagen. Auch konnte gezeigt werden, dass bei der Mobilisation von hämatopoietischen Stammzellen aus dem Knochenmark in das periphere Blut eine verstärkte Expression von CD47 die Stammzellen vor der Elimination in der Peripherie durch Gewebemakrophagen schützt. Sobald die Stammzellen ihre Nische beziehen wird die CD47 Expression wieder reduziert.
- In den letzten Jahren wurde CD47 als Oberflächenantigen auf Tumorzellen intensiv befolgt. Zahlreiche Tumoren weisen eine

erhöhte Expression von CD47 auf. In verschiedenen experimentellen *in vitro* und *in vivo* Modellen konnte hierbei gezeigt werden, dass Tumorzellen durch CD47-Überexpression somit die Funktion von Makrophagen unterdrücken und so vor dem angeborenen Immunsystem «flüchten». Die Expression von CD47 korreliert entsprechend mit dem Gesamtüberleben zum Beispiel bei der akuten myeloischen Leukämie (AML). Bei der AML konnte auch gezeigt werden, dass leukämische Stammzellen eine stark erhöhte Expression von CD47 aufweisen. Zur Blockade der CD47-SIRP $\alpha$  Interaktion und somit Induktion von Phagozytose wurden verschiedene Antikörper gegen CD47 und auch gegen SIRP $\alpha$  entwickelt. Dabei werden in Abwesenheit der CD47-SIRP $\alpha$  Interaktion die Tumorzellen durch das pro-phagozytische Signal Calreticulin (siehe oben) den Makrophagen «zum Fressen» präsentiert.

- Wichtig ist dabei, dass die alleinige Blockade der Interaktion zwischen CD47 und SIRP $\alpha$  nicht genügt, um eine effiziente Antitumorantwort auszulösen. Hierfür braucht es ein zusätzliches zweites Signal, eine zusätzliche Makrophagenaktivierung, z.B. durch eine Antikörper-abhängige zelluläre Zytotoxizität (Fc-Rezeptor vermittelt).
- Monoklonale Antikörper wie der breit eingesetzte anti-CD20 Antikörper Rituximab üben einen Grossteil ihrer Wirkung über eine Antikörper-abhängige zelluläre Zytotoxizität aus. Es ist somit naheliegend, dass eine Kombination von Rituximab und anti-CD47 (wie in der unten vorgestellten Arbeit am klinischen Beispiel gezeigt) sehr wirksam sein kann. Diese Synergie wurde bereits vor mehreren Jahren an Lymphom-Modellen untersucht. Dabei konnte in der Tat gezeigt werden, dass diese Kombination zu einer deutlichen Potenzierung der Makrophagen-Antwort führt. Dass diese Ansätze nicht nur bei hämato-onkologischen Tumoren möglich und wirksam sind, zeigt eine Studie mit dem anti-Her2/Neu-Antikörper Trastuzumab in Kombination mit einer CD47-Blockade im Brustkrebsmodell.
- Die ersten Studien, welche die Antitumor-Wirkung einer CD47-Blockade untersuchten wurden in immunsupprimierten Mäusen ohne eigene T- und B-Zellproduktion untersucht. Deswegen wurde wahrscheinlich erst später die wichtige Rolle von CD8-positiven T-Zellen bei der Antitumor-Antwort in Abwesenheit einer CD47-SIRP $\alpha$  Interaktion entdeckt. Dabei führt die Interaktion von Tumorzellen mit Makrophagen zur Antigenaufnahme in und Antigenpräsentation auf Makrophagen und damit zur Aktivierung von T-Zellen mit Antitumor-Aktivität.
- Die Wirkung mehrerer anti-CD47-Antikörper wird aktuell als Monotherapie oder in Kombination (z.B. mit anderen Immuncheckpoint-Inhibitoren) in mehreren klinischen Studien bei hämato-onkologischen und soliden Tumoren untersucht.



#### Beispielhafte Darstellung der therapeutischen Blockade der CD47-SIRP $\alpha$ Interaktion.

Lymphomzellen weisen eine erhöhte Expression des Oberflächenantigens CD47 auf. Dieses interagiert mit dem Makrophagen-Rezeptor SIRP $\alpha$  und verhindert so, dass die Lymphomzelle vom Makrophagen «gefressen» wird («Friss mich nicht» Signal). Die Blockade der Interaktion zwischen CD47 und SIRP $\alpha$  durch 5F9 hebt das inhibitorische Signal auf. Gleichzeitig führt das Fc-Fragment des monoklonalen Antikörpers Rituximab zur Aktivierung von Makrophagen. Die Lymphomzellen, welche das prophagozytische Signalprotein Calreticulin auf der Oberfläche exprimieren werden so den Makrophagen «zum Frass» vorgelegt und eliminiert.

## CD47 Blockade durch Hu5F9-G4 und Rituximab beim Non-Hodgkin Lymphom

Der Hu5F9-G4 (im Folgenden 5F9) Antikörper, der CD47 blockiert, ist ein Makrophagen-Immun-Checkpoint-Inhibitor, der eine Tumorzell-Phagozytose induziert. 5F9 eliminiert synergistisch mit Rituximab B-Zell-Non-Hodgkin-Lymphom-Zellen durch Steigerung der durch Makrophagen vermittelten antikörperabhängigen zellulären Phagozytose. Diese Kombination – 5F9 und Rituximab – wurde klinisch in einer Phase 1b-Studie bei Patienten mit rezidiviertem oder refraktärem Non-Hodgkin-Lymphom eingesetzt. Die Patienten wiesen ein diffuses grosszelliges B-Zell-Lymphom (DLBCL) oder ein follikuläres Lymphom (FL) auf. 5F9 wurde in einer Grunddosis von 1 mg pro Kilogramm Körpergewicht und mit wöchentlichen Erhaltungsdosen von 10 bis 30 mg pro Kilogramm intravenös verabreicht und mit Rituximab kombiniert. Bestimmt wurden Sicherheit und Wirksamkeit im Hinblick auf eine Phase-2-Dosisbestimmung.

Insgesamt wurden 22 Patienten (15 mit DLBCL und 7 mit follikulärem Lymphom) in die Studie aufgenommen. Die Patienten hatten im Median 4 (2 bis 10) frühere Therapien erhalten, und 95% der Patienten hatten ein Lymphom, das auf Rituximab refraktär war. Uner-

wünschte Ereignisse waren überwiegend vom Grad 1 oder 2. Die häufigsten unerwünschten Nebenwirkungen waren Anämie und Infusionsreaktionen. Die Anämie (ein erwarteter zielgerichteter Effekt) wurde durch die Strategie mit der 5F9 Priming- und Erhaltungsdosierung gemildert. Dosislimitierende Nebenwirkungen waren selten. Eine ausgewählte Phase-2-Dosis von 30 mg 5F9 pro Kilogramm führte zu einer ca. 100%igen CD47-Rezeptorbelegung auf zirkulierenden Leukozyten und Erythrozyten. Insgesamt hatten 50% der Patienten ein objektives (d.h. vollständiges oder partielles) Ansprechen, 36% ein vollständiges Ansprechen.

Das objektive Ansprechen und vollständige Ansprechen lag bei 40% bzw. 33% bei Patienten mit DLBCL und 71% bzw. 43% bei Patienten mit FL. Bei einem medianen Follow-up von 6,2 Monaten der Patienten mit DLBCL und 8,1 Monaten der Patienten mit FL war in 91% der Patienten das Ansprechen anhaltend.

Der Makrophagen-Checkpoint-Inhibitor 5F9 in Kombination mit Rituximab zeigte vielversprechende Ergebnisse bei Patienten mit aggressivem und indolentem Lymphom. In dieser initialen Studie wurden keine klinisch relevanten Sicherheitsereignisse beobachtet.

### Kommentar

- ▶ Dies ist die erste publizierte klinische Studie mit dem Einsatz eines anti-CD47 Antikörpers (5F9) beim Menschen. Dabei wurden Patienten mit refraktären, rezidivierten B-Zell-Lymphomen vom Typ diffuses grosszelliges B-Zell Lymphom (DLBCL) und follikuläres Lymphom (FL) behandelt. Beachtlich ist dabei, dass diese Patienten davor mit 2-10 Therapielinien behandelt wurden und eine Resistenz gegen Rituximab aufwiesen. Die Patienten erhielten eine «Primingdosis» von 5F9 (siehe unten), gefolgt von einer wöchentlichen Applikation bis zur Progression. Rituximab wurde in den ersten 4 Wochen wöchentlich gegeben, danach monatlich bis und mit Zyklus 6.
- ▶ Die CD47-SIRPα Blockade in Kombination mit Rituximab führt in dieser Studie zu einer Reaktivierung der anti-CD20 Wirkung. Dabei wurde bei 50% der Patienten ein objektives Ansprechen und bei 36% der Patienten eine komplette Remission(!) erreicht. Nach >6 Monaten war das Ansprechen bei >90% der Patienten anhaltend. Dabei war das Ansprechen bei Patienten mit FL tendenziell besser als bei Patienten mit DLBCL. Wichtig erscheint dabei, dass das Ansprechen unabhängig vom DLBCL-Subtyp (z.B. einschliesslich double-hit Lymphome und transformierte DLBCL) war. Dies bestätigt die Vermutung, dass eine Blockade der CD47-SIRPα Interaktion unabhängig von zell-intrinsischen Faktoren wirksam sein kann.
- ▶ Die Sorge vor schwerwiegender Anämie (siehe auch oben bzgl. Rolle der Interaktion bei Erythrozyten), die vor dem Start der klinischen Studien mit anti-CD47 bestand, konnte relativiert werden. Zwar entwickelten in dieser Studie die Patienten eine Anämie begleitet von einer Retikulozytose. Die Hämoglobin-Konzentration erholte sich jedoch stetig. Die Autoren gehen davon aus, dass die gewählte Infusionsstrategie mit einer sogenannten «Primingdosis» von 5F9 zu Beginn der Therapie, welche theoretisch nur ältere Erythrozyten eliminiert, die milde Ausprägung der Anämie erklärt.
- ▶ Insgesamt war das Nebenwirkungsprofil (häufigste nicht-hämatologische Nebenwirkungen: Fieber, Kopfschmerzen,

Infusionsreaktionen) sehr moderat mit sehr wenig schweren Nebenwirkungen. Die häufigste Grad 3 Nebenwirkung war wiederum die Anämie, die bei dieser Patientenpopulation durchaus in Kauf genommen werden kann. Zahlreiche Nebenwirkungen sind durch die ausgelöste Immunreaktion gut erklärt und tolerierbar. Wie von anderen (T-Zell)-Immuncheckpoint-Inhibitoren bekannt, wurde auch bei der Therapie mit 5F9 bei einem Patienten eine Immunthrombozytopenie (ITP) diagnostiziert. Es konnten (bisher) keine Langzeit-Nebenwirkungen festgestellt werden. Somit gab es keine inakzeptablen Nebenwirkungen von 5F9.

- ▶ Es ist durchaus denkbar, dass die erstaunliche Wirkung von 5F9 in Kombination mit Rituximab eine langdauernde T-Zell-Antwort gegen Lymphomzellen via Antigenpräsentierung durch Makrophagen auslöst (siehe oben). Es ist somit auch selbstverständlich, dass eine längere Beobachtungszeit nötig ist, um Autoimmunphänomene oder Langzeitnebenwirkungen zu erfassen.
- ▶ Diese «Landmark»-Studie bestätigt somit die präklinischen Modelle, welche zeigen, dass eine Reaktivierung der anti-CD20-Wirkung durch CD47-Blockade gegen Lymphomzellen möglich ist. Aktuell sind mindestens 5 Pharmafirmen an klinischen Studien mit CD47-Blockade beteiligt. Dabei wird die Wirkung Mono- und Kombinationstherapien bei verschiedenen Tumorerkrankungen in Phase 1 und Phase 2 Studien untersucht. Ein besonderes Augenmerk sollte dabei auf die Kombination von Makrophagen- und T-Zell-Immuncheckpoint-Inhibition gerichtet werden. Zudem sind bereits bispezifische Antikörper gegen CD47 und z.B. PDL1 oder CD19 entwickelt worden.
- ▶ Das Gebiet der Immuntherapien ist somit, um eine neue zelluläre Komponente als Effektorzellen, die Makrophagen, erweitert worden. Die hier vorgestellten, vielversprechenden Daten dürften eine neue Ära in der Immunonkologie einläuten.

## Venetoclax kombiniert mit Decitabine oder Azacitidine in der Behandlung von behandlungsnaiven, älteren Patienten mit akuter myeloischer Leukämie

Ältere Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) sprechen schlecht auf Standardinduktionstherapie an. Die Überexpression von BCL-2 ist mit dem Überleben von AML-Zellen und der Resistenz gegenüber Therapie assoziiert. Die Autoren berichten über Sicherheit und Wirksamkeit von Venetoclax in Kombination mit Decitabin oder Azacitidin in einer grossen, multizentrischen Phase 1b Dosisescalations- und Expansionsstudie. In die Studie wurden Patienten (n=145)  $\geq 65$  Jahre mit behandlungsnaiver AML, welche nicht für eine intensive Chemotherapie qualifizierten eingeschlossen. Während der Dosisescalation wurden täglich 400, 800 oder 1200 mg Venetoclax p.o. verabreicht. Venetoclax wurde entweder mit Decitabin (20 mg/m<sup>2</sup>, Tage 1-5; intravenös, i.v.) oder Azacitidin (75 mg/m<sup>2</sup>, Tage 1-7; i.v. oder subkutan) kombiniert. In der Expansionsphase wurde Venetoclax 400 mg oder 800 mg Venetoclax mit einer hypomethylierenden Therapie (HMA) kombiniert. Das mittlere Alter lag bei 74 Jahren. 49%

der Patienten hatten ein ungünstiges zytogenetisches Profil. Häufige unerwünschte Ereignisse (>30%) waren Nausea, Diarrhoe, Obstipation, febrile Neutropenie, Müdigkeit, Hypokaliämie, verminderter Appetit, und Leukopenie. Kein Tumor-Lyse-Syndrom wurde beobachtet. Mit einer medianen Beobachtungszeit von 8,9 Monaten erreichten 67% der Patienten (alle Dosen) eine komplette Remission (CR) oder eine CR mit inkompletter hämatologischer Regeneration (CRi), mit einer CR+CRi-Rate von 73% in der Venetoclax 400mg + HMA-Kohorte. Patienten mit einer ungünstigen Zytogenetik und Patienten  $\geq 75$  Jahre wiesen eine CR+CRi von 60% bzw. 65% auf. Die mediane Dauer der CR+CRi (alle Patienten) betrug 11,3 Monate und das mediane Gesamtüberleben (mOS) betrug 17,5 Monate; Das mOS war in der Kohorte mit Venetoclax 400mg zum Zeitpunkt Analyse nicht erreicht. Die Kombination von Venetoclax mit Decitabin oder Azacitidin war bei älteren Patienten mit AML wirksam und wurde gut toleriert.

### Kommentar

- ▶ Die Prognose von älteren Patienten mit Neudiagnose akuter myeloischer Leukämie (AML) ist schlecht und hat sich in den letzten Jahrzehnten nicht wesentlich geändert. Hierfür sind im Wesentlichen drei Faktoren verantwortlich; 1. Therapie-assoziierte Mortalität bei intensiver Chemotherapie, 2. Komorbiditäten, die eine intensive Chemotherapie verunmöglichen, 3. Höhere Inzidenz von AML mit ungünstigem Risikoprofil mit zunehmendem Alter.
- ▶ Venetoclax ist ein Inhibitor des anti-apoptischen Proteins BCL-2. Für Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie mit einer 17p-Deletion oder einer TP53-Mutation nach Versagen einer Therapie mit einem Inhibitor des B-Zell-Rezeptor-Signalwegs liegt in der Schweiz die Zulassung vor. Bereits 2013 konnte im präklinischen Model gezeigt werden, dass die Inhibition von BCL-2 auch zur Elimination von leukämischen Stammzellen bei AML führen kann.
- ▶ Ältere Patienten, die keiner intensiven Chemotherapie (z.B. Zytarabin und Anthrazykline, sog. 3+7 Schema) zugeführt werden können werden aktuell in der Regel mit einer palliativen hypomethylierenden Therapie vom Typ Azacitidin oder Decitabin behandelt. Beide sind für die AML-Therapie in der Schweiz zugelassen. Das Ansprechen variiert dabei je nach Studie zwischen 10 und 50%. Die Dauer bis zum Erreichen einer kompletten Remission ist mit 3-4 Monaten relativ lang. Das mediane Gesamtüberleben beträgt 6-12 Monate.
- ▶ Die vorgestellte Phase 1b Studie erweitert die Daten der gleichen Gruppe, welche im Februar 2018 im Lancet Oncology publiziert wurden (57 Patienten). Insgesamt wurden in der vorgestellten Studie 145 Patienten eingeschlossen. Das mediane Alter war mit 74 Jahren hoch. Fast die Hälfte aller Patienten hatte ein ungünstiges zytogenetisches AML-Profil.
- ▶ Das mediane Gesamtüberleben war mit 17.5 Monaten deutlich höher als die Monotherapie mit einer hypomethylierenden Substanz (siehe oben). Dabei zeigt die Kombination mit Venetoclax 400 mg das beste Ansprechen mit einem nicht erreichten medianen Gesamtüberleben. Bemerkenswert ist, dass die Dauer bis zum Erreichen einer kompletten Remission halb so lang ist wie bei den publizierten Daten zur Monotherapie. Dies widerspiegelt sich auch teilweise in der niedrigen Frühmortalität (3%).
- ▶ Erstaunliche Ergebnisse zeigt die Subgruppenanalyse dieser Studie. Dabei kann zusammenfassend festgehalten werden, dass auch Patienten mit ungünstigem zytogenetischen Profil oder prognostisch ungünstigen somatischen Mutationen im Tumorsuppressor-Gen TP53 oder der Isocitrat-Dehydrogenase (IDH) klar von dieser Therapiestrategie profitieren können. Patienten mit IDH-Mutationen scheinen dabei besonders sensitiv zu sein (medianes Gesamtüberleben >2 Jahre). Das mediane Gesamtüberleben von Patienten mit sekundärer AML, welche häufig therapie-refraktär sind, wurde bisher nicht erreicht.
- ▶ Aufgrund der vielversprechenden Daten wird die Kombination Venetoclax 400 mg/Azacitidin aktuell in einer Phase 3 Studie untersucht (NCT02993523).
- ▶ Die Aussichten für ältere, «unfitte» AML-Patienten werden bei Bestätigung der dargelegten Daten in Zukunft entsprechend besser werden. Auch wird der kurative Ansatz in dieser Alterskategorie mit konsolidierender allogener hämatopoietischer Stammzelltransplantation nach Erreichen einer kompletten Remission untersucht werden müssen.
- ▶ In der HOVON/SAKK-Studien-Gruppe ist eine Studie für AML-Patienten  $\geq 18$  Jahre ohne FLT3- und ohne IDH-Mutationen, welche die Zugabe von Venetoclax während der Induktions-, Konsolidations- und Erhaltungsphase vorsieht geplant.