



# Vacuna terapéutica CSF-470 para melanoma cutáneo

**Dra. Mariana Aris\***; **Dra. María Marcela Barrio\*\***; **Dr. José Mordoh\*\*\***

\* BECARIA POST-DOCTORAL DEL CIO-FUCA.

\*\* SUBDIRECTORA DEL CIO-FUCA.

\*\*\* DIRECTOR DEL CIO-FUCA Y DEL LABORATORIO DE CANCEROLOGÍA DEL IIBBA-FIL-CONICET

CENTRO DE INVESTIGACIONES ONCOLÓGICAS, FUNDACIÓN CÁNCER (CIO-FUCA),  
E INSTITUTO MÉDICO ESPECIALIZADO ALEXANDER FLEMING.  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOQUÍMICAS BUENOS AIRES-FUNDACIÓN  
INSTITUTO LELOIR-CONICET.  
CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA.

## RESUMEN

*El Melanoma cutáneo es la patología tumoral con mayor incidencia de crecimiento. Una vez que hace metástasis, es resistente a los tratamientos convencionales, con pronóstico reservado. Recientemente han surgido nuevas estrategias terapéuticas con resultados alentadores, incluyendo la inmunoterapia.*

*En esta nota nos centraremos en el uso de vacunas, en particular en la vacuna alogénea irradiada CSF-470, coadyuvada con BCG y Molgramostim (GM-CSF), para el tratamiento adyuvante de pacientes con melanoma cutáneo estadios IIB, IIC o III post-cirugía.*

*Describiremos los resultados del estudio clínico de fase I y el diseño del estudio actual de fase II-III activo.*

**Palabras clave:** *vacuna CSF-470; melanoma cutáneo; estudio de fase II-III; adyuvante terapéutico*

## RESUMO

*O melanoma cutâneo é a patologia tumoral com maior incidência de crescimento. Uma vez feita a metástase, é resistente aos tratamentos convencionais, com prognóstico reservado. Recentemente tem havido novas estratégias terapêuticas com resultados encorajadores, incluindo a imunoterapia.*

*Neste artigo vamos nos focar no uso de vacinas, especialmente a vacina alogênica irradiada CSF-470, adjuvante com BCG e Molgramostim (GM-CSF) para o tratamento adjuvante de pacientes com melanoma cutâneo estágios IIB, IIC ou III pós-cirurgia.*

*Descrever os resultados do estudo clínico da fase I e o desenho do estudo atual das fases II e III ativo.*

**Palavras-chave:** *vacina CSF-470; melanoma cutâneo, estudo da fase II-III; terapia adjuvante*

## SUMMARY

*Cutaneous Melanoma is currently the tumor with fastest growing incidence worldwide. Once metastasizes, is refractory to conventional therapies, with poor prognosis. Recently, new therapeutic strategies have emerged with encouraging results, including immunotherapy.*

*In this work we will focus on vaccines, in particular the CSF-470 vaccine, coadjuvanted with BCG and Molgramostim (GM-CSF), for adjuvant therapy in stage IIB, IIC and III Cutaneous Melanoma patients post-surgery.*

*We will describe phase I results, and the design of the current active phase II-III Clinical Trial.*

**Key words:** *CSF-470 vaccine; Cutaneous Melanoma; phase II-III clinical trial; Adjuvant therapy.*

## INTRODUCCIÓN

### Melanoma cutáneo

El melanoma cutáneo (MC) es la patología tumoral con mayor incidencia de crecimiento en los últimos años<sup>1</sup>. Representa el 5% de los tumores de piel, es un tumor de naturaleza heterogénea y altamente agresivo. El principal factor de riesgo es la exposición excesiva a la radiación UV.

La predisposición genética está asociada a genes específicos de susceptibilidad, siendo los principales CDKN2A y CDK4<sup>2</sup>, que suelen reflejarse en la historia familiar del MC. A su vez, la existencia de un MC previo está asociada a un incremento de 10 veces de desarrollar un segundo tumor en los dos primeros años.<sup>3</sup> Por lo tanto es fundamental el control dermatológico periódico para favorecer un diagnóstico temprano y por ende un mejor pronóstico.

Según sea el estadio al momento del diagnóstico, serán las opciones de tratamiento. En estadios tempranos, el MC suele ser curado por cirugía en un porcentaje mayor al 90%.<sup>4</sup> A medida que progresa el estadio diagnosticado se incrementa el riesgo de recurrencia post-cirugía, por lo que se aconseja un tratamiento adyuvante. Una vez que el MC hace metástasis, su pronóstico es reservado.

Dada la naturaleza refractaria del MC a los tratamientos convencionales como la quimioterapia, hay esfuerzos intensos por la comunidad científica y médica para buscar nuevas terapias efectivas para su tratamiento.

En los últimos años, han surgido nuevas modalidades para el tratamiento del cáncer. En particular, la inmunoterapia busca estimular, restaurar, dirigir, e incluso complementar al sistema inmune del propio paciente para el control de posibles focos tumorales. En este sentido, el MC es un tumor inmunogénico por excelencia, se han descrito numero-

sos antígenos (Ag) tumorales y evidencias de inmunoección tumoral en pacientes.<sup>5</sup> Por lo que la inmunoterapia ha surgido como una opción de interés para el tratamiento del MC.

Se han planteado diferentes estrategias de inmunoterapia, tanto activas como pasivas. La primera droga inmunoterapéutica aprobada para el tratamiento del MC metastático fue la Interleuquina 2 (IL-2), que promueve la activación de linfocitos T, B y NK. Estudios indican que altas dosis de IL-2 permitieron obtener respuestas de larga duración en 16% de los pacientes, y respuestas completas en 6% de los casos.<sup>6</sup> La IL-2 fue la primera "prueba de principio" de que un medicamento dirigido al sistema inmune puede controlar el MC a largo plazo. Más adelante se aprobó el uso del Interferón alfa 2b (IFN- $\alpha$  2b) para el tratamiento adyuvante del MC post-cirugía. Actualmente, el IFN- $\alpha$ 2b es el tratamiento adyuvante post-cirugía estándar. El mecanismo de acción propuesto para el IFN- $\alpha$ 2b es la inhibición de la angiogénesis en los tumores y estimulación de forma inespecífica a las células efectoras del SI. Estudios previos han demostrado que el tratamiento adyuvante con IFN- $\alpha$ 2b a dosis intermedias durante dos años incrementa la supervivencia libre de enfermedad (SLE) de los pacientes con riesgo alto de recurrencia (estadios IIb, IIc y III), sin efecto significativo en la supervivencia global (SG).<sup>7</sup>

Uno de los puntos clave de la inmunoterapia es la posibilidad de generar memoria inmunológica, dando el marco para el desarrollo de vacunas terapéuticas.

### Vacunas terapéuticas

El objetivo de las vacunas terapéuticas es la "educación" del sistema inmune para el control de posibles focos tumorales existentes. Hay diferentes plataformas de vacunas, incluyendo vacunas de péptidos o proteí-

nas; de ácidos nucleicos; de vectores recombinantes; de células tumorales, enteras o lisadas, y de células presentadoras de antígenos.<sup>8</sup>

En general, las vacunas generan una respuesta lenta pero sostenida en el tiempo. Esto está determinado principalmente por la naturaleza del tumor y la influencia del microambiente tumoral, incluyendo la presencia de factores inmunosupresores. Por esto, es fundamental un diseño apropiado del estudio clínico, contemplando el medicamento o la combinación terapéutica, las dosis de estudio, la población de pacientes y los parámetros clínicos a analizar. Estas diferencias se reflejan en los diferentes estudios clínicos.

A continuación haremos referencia sobre algunos estudios clínicos de fase III representativos en MC con vacunas de péptidos y de células tumorales.

Las vacunas peptídicas están dirigidas a uno o varios de los Ag más representativos en MC. Se realizaron numerosos estudios clínicos con esta estrategia, algunos con resultados alentadores. Sin embargo, el mayor riesgo de usar vacunas peptídicas es la promoción de resistencia seleccionando poblaciones tumorales Ag-negativas.

En un estudio se analizó en pacientes estadios III y IV el tratamiento con una vacuna de péptidos derivados de la proteína gp100, en combinación con el adyuvante Montanide ISA-51 e IL-2 a alta dosis, en comparación al tratamiento sólo con IL-2. En el grupo tratado con la vacuna peptídica se observó un incremento significativo en la SLE (2,2 meses frente a 1,6 meses) y en la tasa de respuesta clínica, con una tendencia de incremento en la supervivencia global (SG).<sup>9</sup>

En otro estudio, se analizó en pacientes estadios II-IV, el tratamiento con una vacuna multi-peptídica sola; combinada con GM-CSF, 250  $\mu$ g/día

subcutáneo por 14/28 días del mes; combinada con IFN $\alpha$ -2b, 10 millones U/m<sup>2</sup> 3 veces por semana; ó combinada con GM-CSF e IFN $\alpha$ -2b. Se encontró una correlación entre la respuesta inmune y un incremento en la SG (21,3 meses frente a 13,4 meses), aunque en este caso no se halló una asociación con el uso de los adyuvantes GM-CSF o IFN $\alpha$ -2b.<sup>10</sup>

El uso de vacunas con células enteras o lisados celulares le da la posibilidad al sistema inmune de interactuar con un repertorio antigénico amplio. Es que los tumores son por naturaleza heterogéneos, y el MC no es la excepción. De hecho, nosotros hemos observado en modelos experimentales y en biopsias que las células de MC presentan una profunda plasticidad antigénica en Ag representativos como MART-1 y gp100.<sup>11</sup> Esto significa que los niveles de expresión de estos Ag varían en el tiempo sin afectar el potencial proliferativo ni clonogénico de las células, contribuyendo la heterogeneidad antigénica observada en el MC, y constituyendo un mecanismo de escape tumoral.

Entre los estudios con vacunas con células enteras, la vacuna Melacine está constituida por un lisado liofilizado de células de melanoma junto con el adyuvante Detox PC. Pacientes estadio II post-cirugía con haplotipo HLA-A2 o HLA-C3 tratados con la vacuna Melacine más IFN $\alpha$ -2b presentaron incrementos en la SG y SLE a 5 años del 60% y 50% respectivamente, pero esta respuesta no se vio afectada por el dosaje de IFN $\alpha$ -2b empleado.<sup>12</sup>

### NUESTRA EXPERIENCIA CON VACUNAS TERAPÉUTICAS

#### Vacuna terapéutica CSF-470 de células alogeneicas irradiadas de melanoma cutáneo

Entre los años 2002 y 2004 se realizó un Estudio de Fase I con una

vacuna alogeneica de células irradiadas de MC, empleando BCG como adyuvante y combinado con Molgramostim (GM-CSF) o placebo.<sup>13</sup> La BCG es un estimulador de la respuesta inmune, su efecto primario es sobre los linfocitos T y NK; mientras que el mayor uso terapéutico descrito de la BCG es en carcinoma de vejiga. El factor de crecimiento estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos, GM-CSF (Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor), ejerce su principal efecto terapéutico en la estimulación de la mielopoiesis.

En este estudio, el GM-CSF, producido en forma recombinante, es utilizado por sus efectos in vitro sobre la atracción local de monocitos, y su diferenciación en células dendríticas. En este estudio de fase I, se vacunaron 20 pacientes con MC estadios IIB (n=2), III (n=10) y IV (n=8), post-cirugía, que se encontraban libres de enfermedad (n=16), o poseían enfermedad mínima (n=4). Se establecieron 5 grupos, que recibieron la vacuna VACCIMEL, junto a BCG y diferentes dosis de GM-CSF (placebo, 150  $\mu$ g, 300  $\mu$ g, 400  $\mu$ g y 600  $\mu$ g).

Con respecto a la respuesta clínica, se observó un incremento significativo en la sobrevida global y en la SLE en los pacientes estadios IIB y III, los pacientes estadio IV progresaron.

Datos actualizados a Julio de 2012 indican una sobrevida global y libre de enfermedad del 67% de los 12 pacientes estadio II y III, con un seguimiento medio de 8 años. Por otro lado, la combinación de la Vacuna con BCG y GM-CSF resultó ser segura, no fueron detectados eventos adversos serios. Con respecto a la respuesta inmune, se observó un aumento significativo de la inmunidad celular hasta una dosis máxima de 400  $\mu$ g de GM-CSF. Esto se evaluó con diferentes criterios, incluyendo un aumento en la respuesta de hipersensibilidad retardada (DTH) (foto 1), y la observación de regresiones tumorales mediadas por el sistema inmune post-vacunación.

A partir de los resultados obtenidos, se ha presentado ante la ANMAT el protocolo de un estudio clínico abierto de fase II-III en 108 pacientes, aleatorizado, con 2 ramas paralelas de tratamiento a comparar: la Vacuna CSF-470 y el IFN- $\alpha$ 2b. El objetivo principal de este estudio clínico es comparar la seguridad y la eficacia del uso de la Vacuna alogeneica irradiada CSF-470 coadyuvada con BCG y Molgramostim (GM-CSF), con respecto al IFN- $\alpha$ 2b, en pacientes con MC estadio IIB, IIC o III post-cirugía.

Los objetivos secundarios incluyen comparar la calidad de vida entre los dos tratamientos, y correlacionar la respuesta inmune con la evolución clínica. Este estudio actualmente continúa abierto e incorporando pacientes ([www.anmat.gov.ar/](http://www.anmat.gov.ar/) número de Estudio Clínico 107/2010, título CASVAC 0401).



Foto 1. Vacuna terapéutica CSF-470 para melanoma cutáneo. Estudio clínico de fase I. Determinación de reacción de hipersensibilidad retardada (DTH) en un paciente post-vacunación.

## COMENTARIOS y CONCLUSIONES

El MC continúa siendo un desafío para la medicina, dada la agresividad de esta patología y su naturaleza refractaria a los tratamientos convencionales. Sin embargo, en los últimos años, gracias al incremento en el conocimiento de la biología del MC y de la inmunología, se han hecho grandes avances en el desarrollo de estrategias terapéuticas.

Las vacunas terapéuticas no se dirigen directamente al tumor, sino a células del sistema inmune. Si bien presentan una cinética más lenta en comparación a otras terapias, las inoculaciones seriadas en el tiempo pueden provocar cascadas antigénicas que generen una respuesta inmune sostenible en el tiempo. Si consideramos los esquemas actuales de vacunación, donde se tratan pacientes con enfermedad declarada, el objetivo

principal de la vacunación consiste en lograr en el período libre de enfermedad una inmunización eficaz del huésped induciendo una respuesta humoral y celular en magnitud suficiente como para neutralizar el crecimiento y diseminación ulterior de las células de MC que pudieran haber hecho metástasis.

Hoy en día continúa siendo necesario establecer un tratamiento adyuvante adecuado para disminuir el riesgo de recurrencia en pacientes con melanomas resecaos de alto riesgo. La vacuna CSF-470 combina la especificidad de una mezcla de líneas celulares de MC irradiadas, con la acción inmunoestimuladora de la BCG y el GM-CSF. Hemos analizado en el estudio de fase I el efecto beneficioso del GM-CSF, incrementando el aflujo de monocitos al sitio de inyección, favoreciendo el procesamiento y la presentación antigénica.<sup>13</sup> El estudio de un mayor número de casos permitirá discernir con

mayor precisión el perfil inmune respondedor.

En los últimos años han surgido nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento del MC avanzado. Cabe mencionar inhibidores específicos del oncogén BRAF,<sup>14</sup> y anticuerpos bloqueantes de moléculas inmunosupresoras como CTLA-4,<sup>15</sup> que han demostrado resultados alentadores en estudios de fase III en pacientes con MC metastásico. La aprobación de la vacuna CSF-470 permitirá en un futuro ensayar diferentes combinaciones con estas nuevas alternativas terapéuticas para ampliar su espectro de acción. □

### Agradecimientos

El presente desarrollo ha sido financiado por aportes del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), el Instituto Nacional del Cáncer (INCA), Fundación Cáncer, y Fundación Sales.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. *Cancer statistics, 2012*. *CA Cancer J Clin*. 2012;62(1):10-29.
2. Berwick M, Begg CB, Armstrong BK, et al. *Interaction of CDKN2A and Sun Exposure in the Etiology of Melanoma in the General Population*. *J Invest Dermatol*. Aug 11 2011.
3. Goggins WB, Tsao H. *A population-based analysis of risk factors for a second primary cutaneous melanoma among melanoma survivors*. *Cancer*. 2003;97(3):639-643.
4. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, et al. *Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification*. *J Clin Oncol*. 2009;27(36):6199-6206.
5. Aris M, Barrio MM, Mordoh J. *Lessons from cancer immunoeediting in cutaneous melanoma*. *Clin Dev Immunol*. 2012;2012:192719.
6. Rosenberg SA, Yang JC, Topalian SL, et al. *Treatment of 283 consecutive patients with metastatic melanoma or renal cell cancer using high-dose bolus interleukin 2*. *JAMA*. 1994 Mar 23-30;271(12):907-13.
7. Eggermont AM, Suci S, MacKie R, et al. *Post-surgery adjuvant therapy with intermediate doses of interferon alfa 2b versus observation in patients with stage IIb/III melanoma (EORTC 18952): randomised controlled trial*. *Lancet*. 2005;366: 1189-1196.
8. Schlom J. *Therapeutic cancer vaccines: current status and moving forward*. *J Natl Cancer Inst*. 2012;104(8):599-613.
9. Schwartzentruber DJ, Lawson DH, Richards JM, et al. *gp100 peptide vaccine and interleukin-2 in patients with advanced melanoma*. *N Engl J Med*. 2011;364(22):2119-2127.
10. Kirkwood JM, Lee S, Moschos SJ, et al. *Immunogenicity and antitumor effects of vaccination with peptide vaccine+/-granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and/or IFN-alpha2b in advanced metastatic melanoma: Eastern Cooperative Oncology Group Phase II Trial E1696*. *Clin Cancer Res*. 2009;15(4):1443-1451.
11. Aris M, Zubieta MR, Colombo M, et al. *MART-1- and gp100-expressing and -non-expressing melanoma cells are equally proliferative in tumors and clonogenic in vitro*. *J Invest Dermatol*. 2012;132(2):365-374.
12. Mitchell MS, Abrams J, Thompson JA, et al. *Randomized trial of an allogeneic melanoma lysate vaccine with low-dose interferon Alfa-2b compared with high-dose interferon Alfa-2b for Resected stage III cutaneous melanoma*. *J Clin Oncol*. 2007;25(15):2078-2085.
13. Barrio MM, de Motta PT, Kaplan J, et al. *A phase I study of an allogeneic cell vaccine (VACCIMEL) with GM-CSF in melanoma patients*. *J Immunother*. 2006;29(4):444-454.
14. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. *Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation*. *N Engl J Med*. 2011;364(26):2507-2516.
15. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. *Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma*. *N Engl J Med*. 2010;363(8):711-723.