

| Medicina scienza e ricerca

Arrivano le Car-Treg per le malattie autoimmuni e il rigetto di trapianto

È previsto per il 2020 il primo trial clinico di una terapia con cellule T regolatorie potenziate con un recettore chimerico dell'antigene. Gli studi preclinici sono promettenti e le applicazioni potenziali ampie, ma la strada è ancora lunga (anche se si pensa già a una versione off-the-shelf).

*Dal numero 179 del magazine

di Cristina Tognaccini

24 Giugno 2020



La famiglia delle terapie Car-T (chimeric antigen receptor T cell therapies) – cioè farmaci avanzati a base di cellule T che esprimono un recettore chimerico per l'antigene – potrebbe presto espandersi con un nuovo “modello” associato non alle cellule T, ma a un altro componente del sistema immunitario. Oltre alle due terapie Car-T oggi approvate (Kymriah di Novartis e Yescarta di Gilead/Kite, per sottotipi di linfoma non-Hodgkin e la leucemia linfoblastica acuta) e le altre in procinto di arrivare (come idecel di Bristol Myers Squibb e

bluebird bio e Jnj-4528 di Janssen entrambe per il mieloma multiplo), sono in studio anche terapie che sfruttano le cellule natural killer (Car-Nk), i linfociti T denominati cytokine induced killer (Carcik) e i macrofagi (Car-M), tutti componenti del sistema immunitario e tutti possibili approcci antitumorali.

Un altro ambito di studio riguarda invece le Car-Treg, che mirano a potenziare le cellule T regolatorie (Treg), per il trattamento di malattie autoimmuni e infiammatorie e per il rigetto da trapianto di organo, con un meccanismo d'azione differente rispetto alle già note terapie Car-T. Se in queste ultime infatti, i linfociti T vengono armati con un Car che gli consente di individuare più rapidamente la cellula tumorale bersaglio per poi eliminarla, le Car-Treg avrebbero più il compito di riportare l'ordine in situazioni in cui il sistema immunitario è alterato.

Posizione di controllo

Le cellule T regolatorie hanno infatti la funzione di indurre e mantenere la tolleranza immunitaria, prevenendo così risposte immunitarie eccessive e l'autoimmunità (cioè una reazione del sistema immunitario che non riconoscendo più come propri i tessuti e le cellule di cui è composto l'organismo, li aggredisce). Un deficit numerico o funzionale di cellule Treg o una resistenza nei loro confronti, può dunque portare a disturbi autoimmuni in cui la tolleranza contro il self è interrotta.

Questo sottoinsieme distinto di cellule T CD4 + prodotte dal timo, sono state caratterizzate per la prima volta nel 1995. Da allora sono stati condotti numerosi studi preclinici che hanno dimostrato la capacità delle Treg di ritardare e prevenire il rigetto d'organo e di controllare le risposte autoimmuni a seguito del trasferimento adottivo in vivo. Uno dei primi studi mostrava proprio come le cellule T regolatorie in topi senza timo, potessero proteggere loro dall'autoimmunità. "Le cellule T regolatorie regolano in positivo e in negativo i processi infiammatori e immunitari – commenta Francesco Lanza, direttore del reparto di ematologia, rete di trapianti della Romagna, dell'Ospedale di Ravenna – ma hanno più un ruolo soppressore e possono avere un'utilità anche negli stati infiammatori".

Prove di terapia cellulare

Sulla scia di questi risultati promettenti, le cellule Treg sono state ampiamente studiate come un potenziale nuovo strumento per la prevenzione del rigetto del trapianto e il trattamento delle malattie autoimmuni. Tanto che negli ultimi dieci anni sono stati completati e pubblicati alcuni studi clinici di fase I volti a studiare la sicurezza e la fattibilità della terapia cellulare a base di cellule Treg, mentre un numero crescente di studi è ancora in corso, come riporta una review pubblicata nel 2019 su *Frontiers in Immunology* (Past, present, and future of regulatory t cell therapy in transplantation and autoimmunity). "I primi risultati hanno mostrato la sicurezza e la fattibilità della terapia con Treg e gli studi clinici di fase II sono già in fase di arruolamento" scrivono gli autori. Al momento, come riporta il lavoro, sono in corso studi di fase I o fase II su diabete, morbo di Crohn, lupus, epatite autoimmune, trapianti di fegato e rene. Ma, come commenta Lanza "si tratta di un approccio complesso. Il problema è spesso riuscire a raggiungere livelli terapeutici in tutto l'organismo".

A conferma dei dubbi riferiti dall'esperto, un altro articolo scientifico, pubblicato sempre su *Frontiers in Immunology* nel 2018 (Chimeric Antigen Receptor (CAR) Treg: A Promising Approach to Inducing Immunological Tolerance), riferisce che sono stati sì condotti diversi studi preclinici e clinici, ma che tuttavia, l'uso di un gran numero di cellule Treg policlonali con specificità di antigene sconosciuta ha portato a effetti indesiderati, come l'immunosoppressione sistemica. Problema che potrebbe essere evitato mediante l'utilizzo di Treg specifiche dell'antigene, che sono anche più potenti nella soppressione rispetto a quelle policlonali. "È generalmente riconosciuto che le Treg specifiche dell'antigene, comprese le Car-Treg siano superiori alle Treg policlonali nella loro soppressione" riporta ancora il lavoro. "Le Treg devono migrare verso organi bersaglio correlati alla malattia per esercitare i massimi effetti di soppressione e la Car-Treg specifiche dell'antigene, sono più potenti nel farlo, perché tendono a trasferirsi verso un organo bersaglio che ospita un antigene determinato".

Perché una Car-Treg

Da qui l'idea di sviluppare Treg antigene-specifiche, ingegnerizzate con trasfezione di vettori virali che codificano per recettori dell'antigene chimerico (Car). Una terapia genica insomma, con lo stesso sistema di produzione delle Car-T, in cui è previsto il prelievo delle cellule del paziente, la modifica in laboratorio con un vettore virale che trasporta i geni per la codifica del Car, l'espansione delle cellule ingegnerizzate e infine la reinfusione nello stesso paziente. La prima Car-Treg fu sviluppata nel 2016 quando Megan Levings e Katherine MacDonald della University of British Columbia di Vancouver, in Canada, con il loro gruppo di ricerca, riuscirono a trasdurre cellule Treg umane con una Car mirato all'antigene leucocitario umano (Hla) classe I molecola A2 (A2-Car), per il rigetto di allotrapianto (da altro donatore) e la malattia del trapianto contro l'ospite (Gvhd).

I risultati del loro studio pubblicati nell'aprile di quell'anno (Alloantigen-specific regulatory t cells generated with a chimeric antigen receptor) mostrarono che l'uso della tecnologia Car per generare Treg umane alloantigene-specifiche, potenti, funzionali e stabili, migliorava notevolmente il potenziale terapeutico delle Treg nel trapianto e poneva le basi per l'utilizzo di questo approccio per la terapia di svariate malattie. Risultati confermati l'anno dopo anche da un gruppo del King's College London di Londra, che dimostrarono come le Treg umane con un Car di questo tipo, erano in grado di alleviare e prevenire il rigetto dei trapianti di pelle in un modello di xenotrapianto di pelle umana.

Come funziona la Car-Treg

La Car-Treg sviluppata da Levings e colleghi prevedeva di utilizzare un Car progettato per legarsi a Hla-A2, una proteina appartenente al sistema antigene leucocitario umano (Hla). "Un sistema di proteine che si trova sulla superficie delle cellule umane e che sono responsabili della regolazione del sistema immunitario" spiega Enrico Maffini, ricercatore del reparto di ematologia, dell'Ospedale di Ravenna, che ha lavorato sulle terapie Car-T. "Una sorta di 'carta d'identità' che consente agli attori del sistema immunitario di riconoscere il self e non andare incontro all'autodigestione.

Le Treg hanno il compito di vigilare affinché questo dualismo reciproco tra chi presenta l'antigene Hla e chi lo riconosce venga mantenuto". L'Hla-A2 è espressa in modo costitutivo sulla superficie di quasi tutte le cellule trapiantate ed è molto diffusa (> 40%) nei donatori bianchi. La mancata corrispondenza nelle molecole di Hla tra donatore e ricevente è uno dei principali fattori che contribuiscono all'incompatibilità del trapianto di organi e può portare al rigetto immuno-mediato dell'organo trapiantato. Il sistema immunitario del ricevente infatti, può riconoscere questa discrepanza Hla-A2 e attaccare il nuovo rene, portando potenzialmente al rigetto. Motivo per cui l'Hla-A2 è un potenziale antigene bersaglio per lo sviluppo di Treg specifiche in grado di indurre la tolleranza immunitaria.

La Car-Treg avrebbe dunque il compito di recarsi sul posto "del disordine" e sopprimere la risposta immunitaria eccessiva nei confronti dell'organo trapiantato. "Una Car-Treg rappresenterebbe un'arma in grado di riportare o introdurre in alcuni casi, un riequilibrio del sistema immunitario, in tutti i contesti in cui è andato incontro a una disfunzione" precisa Maffini. "Dalla trapiantologia dell'organo solido alle malattie autoimmunitarie, come diabete di tipo 1, malattie croniche intestinali, ecc. Inoltre ha il vantaggio di restare nell'organismo per un certo periodo di tempo e di regolare costantemente le difese naturali dell'organismo".

Un punto di partenza

Nell'ottobre del 2016 la biotech TxCell, impegnata nello sviluppo di immunoterapie cellulari innovative con cellule Treg, per il trattamento di gravi malattie infiammatorie croniche e autoimmuni, iniziò una collaborazione con l'University of British Columbia canadese che stava sviluppando la terapia Car-Treg già ricordata. Due anni dopo, Sangamo Therapeutics, biotech specializzata in medicina genomica acquisì TxCell portando la Car-Treg autologa (cioè prodotta dalle cellule del paziente) con target Hla-A2 nella propria pipeline con il nome TX200.

Per arrivare infine all'annuncio dello scorso novembre di Sangamo, del via libero ricevuto dalla Medicines healthcare products regulatory agency (Mhra), ovvero l'Ente regolatorio britannico, per il primo studio clinico di fase I/ II sulle Car-Treg. La sperimentazione Steadfast – che dovrebbe partire entro il 2020 come annunciato dalla società – valuterà sicurezza ed efficacia della terapia TX200 per prevenire il rigetto immuno-mediato in seguito a trapianto di rene Hla-A2 non corrispondente, nella malattia renale a uno stadio terminale.

“Il trial sarà utile per ampliare la nostra comprensione sulla sicurezza e il meccanismo d'azione delle cellule Car-Treg e la loro rilevanza nella clinica” aveva commentato Adrian Woolfson, Head of Research and Development di Sangamo. Ricordando anche che l'innovativo approccio è progettato, nel caso del trapianto di rene non corrispondente Hla-A2, per regolare il sistema immunitario e favorire l'accettazione di un organo proveniente da un donatore immunologicamente non corrispondente. “Oltre al trapianto, abbiamo in programma di esplorare il potenziale delle Car-Tregs in una gamma di malattie autoimmuni e infiammatorie” aveva aggiunto Woolfson.

Applicazioni

Il potenziale campo di applicazione delle Car-Treg spazia dunque dal trapianto d'organi alle malattie immuno-correlate, due aree in cui, secondo quanto riporta la letteratura, ci sarebbe bisogno di nuovi approcci terapeutici. Nel caso del trapianto d'organo perché, benché sia tutt'oggi il trattamento di scelta in caso di insufficienza d'organo allo stadio terminale, il rigetto e i conseguenti effetti collaterali degli immunosoppressori (come maggiore sensibilità a infezioni opportunistiche potenzialmente letali, un aumentato rischio di neoplasie e altre tossicità correlate ai farmaci) costituiscono ancora uno dei principali fattori limitanti per l'accettazione degli organi e la sopravvivenza del paziente.

Le malattie autoimmuni invece, sono un'altra area di interesse perché mostrano una prevalenza in continua crescita e sono associate a un elevato onere socioeconomico dovuto alla gestione delle malattie croniche a lungo termine. Sfruttare una Car-Treg per il trattamento delle malattie autoimmuni potrebbe però essere più complesso rispetto al trapianto d'organo, come ricorda Maffini. La strada da fare insomma è ancora tanta, come ricorda l'esperto, perché la ricerca in questo settore – come si è visto per le terapie Car-T – richiede molte risorse in termini di tempo, finanziamenti, strutture ecc., “e le aziende pharma per il momento non sembrano essere particolarmente interessate. Perché nonostante l'ampia applicabilità la Car-Treg sembrano essere meno appetibili rispetto le Car-T oncologiche” conclude Maffini.

Verso le Car-Treg pronte all'uso

Per ora, l'unica ad aver portare avanti questo approccio, è appunto Sangamo, che giusto lo scorso aprile aveva annunciato un nuovo accordo con Mogrify per sviluppare terapie cellulari Car-Treg allogeniche, pronte all'uso (off-the-shelf), per il trattamento di malattie autoimmuni e infiammatorie. La terapia che dovrebbe emergere da questa nuova collaborazione, mette insieme la tecnologia di Mogrify, che permette di ottenere cellule T regolatorie a partire da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) e cellule staminali embrionali (Esc) e il sistema di editing genetico zinc finger protein (Zfp) di Sangamo. In modo da sviluppare cellule Car-Treg allogeniche, standardizzate e non limitate all'uso personalizzato come le attuali Car-T.

La tecnologia di Mogrify consente la trasformazione di qualsiasi tipo di cellula umana in qualsiasi altra. Per capire il processo basta fare un salto indietro al 2012, quando John Gurdon and Shinya Yamanaka ricevettero il Premio Nobel per la Fisiologia e la Medicina per avere scoperto come riprogrammare una cellula matura. In sostanza avevano capito come far "tornare indietro nel tempo" un qualsiasi cellula del corpo (le cellule somatiche), per farla ridiventare una cellula staminale (le cellule indifferenziate da cui tutte le altre hanno origine) e infine differenziarla in qualsiasi altra cellule del corpo. Avevano ottenuto così le cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC), che al pari di una cellula staminale embrionale, non sono differenziate e hanno la potenzialità di dare origine a ogni tipo istologico presente nell'organismo (cellule pluripotenti).

La company britannica Mogrify ha messo a punto una piattaforma che adotta un approccio sistematico di big data - basato sui dati di next-generation sequencing e la costruzione di reti di regolazione genica (DNA-proteina e proteina-proteina) - per identificare i fattori di trascrizione (in vitro) o le piccole molecole (in vivo) necessarie per convertire qualsiasi tipo di cellula umana in un'altra cellula desiderata. Le iPSC e le Esc rappresentano un materiale di partenza sempreverde per la creazione di cellule T regolatorie, facilitandone così l'ingegnerizzazione e la produzione su larga scala, consentendo potenzialmente alle terapie risultanti di essere più convenienti e quindi accessibili a popolazioni di pazienti più vaste. Le terapie con cellule Car-T basate sull'ingegnerizzazione delle cellule T, oggi sono solo autologhe, basate cioè sull'utilizzo delle cellule dello stesso paziente. Si tratta di terapie personalizzate che possono essere usate per un'unica persona. Motivo per cui i prezzi sono molto elevati, compromettendone l'utilizzo su popolazioni più ampie. Numerose biotech e gruppi di ricerca stanno perciò provando a sviluppare Car-T allogeniche o "off-the-shelf" che possano essere prodotte su larga scala e utilizzate per più persone. "Ci aspettiamo che questa collaborazione acceleri il nostro sviluppo di terapie cellulari Car-Treg standardizzate e accessibili, in modo da fornire più rapidamente, trattamenti a pazienti con malattie infiammatorie e autoimmuni" aveva affermato Jason Fontenot Head of Cell Therapy di Sangamo.

Una strada non priva di ostacoli

Tuttavia ci sono alcuni ostacoli importanti che devono essere superati prima che le terapie Car-Treg possano essere utilizzate in clinica. Come le già note Car-T antitumorali potrebbero infatti causare effetti collaterali dovuti alla tempesta di citochine e alla citotossicità neuronale. Problemi che al momento non è ancora chiaro se potrebbero verificarsi anche con le Car-Treg. Inoltre, è necessario caratterizzare anticorpi specifici per determinati antigeni, per la costruzione di Car-Treg efficienti. Processo, quello della selezione di antigeni bersaglio e lo sviluppo di anticorpi specifici, che richiedono tempo e possono essere difficili da ottenere in alcuni modelli di malattia. Infine, l'esaurimento delle Car-Treg nel tempo, potrebbe

probabilmente limitare la loro efficacia nell'immunosoppressione. I ricercatori però sono fiduciosi che in futuro lo sviluppo di anticorpi antigeni specifici per la costruzione dei Car subirà un'accelerata, portando a nuovi studi preclinici e di conseguenza all'emergere di studi clinici che testeranno le terapie Car-Treg.

TAGS: [Bluebird Bio](#) - [Bristol-Myers Squibb](#) - [Gilead](#) - [Janssen](#) - [King's College London Di Londra](#) - [Kite](#) - [Mogrify](#) - [Novartis](#) - [Ospedale Di Ravenna](#) - [Sangamo Therapeutics](#) - [University Of British Columbia Di Vancouver](#)
