**Valutazione dell’efficacia della combinazione dell’inibizione di PD-L1 tramite Durvalumab con chemioterapia a base di Carboplatino ed Etoposide nei carcinomi neuroendocrini a grandi cellule (LCNEC) del polmone metastatici – studio DUPLE**

* **BACKGROUND E RAZIONALE:**

Il carcinoma neuroendocrini a grandi cellule (LCNEC) del polmone è un tipo raro ed aggressivo di tumore neuroendocrino del polmone, che costituisce il 2-3% nei tumori del polmone non a piccole cellule [1]. A cause della rarità del LCNEC, non sono disponibili studi randomizzati a cui fare riferimento per guidare il trattamento, al punto che le opzioni terapeutiche per questa patologia riflettono quelle adoperate nel carcinoma a piccole cellule del polmone (SCLC), a cui il LCNEC è simile sotto l’aspetto genomico e trascrittomico [2]. Tra i LCNEC, almeno due distinti sottotipi possono essere definiti sulla base delle caratteristiche genomiche e trascrittomiche [2]. I LCNEC di tipo I è caratterizzato da mutazioni in *TP53*, *STK11* e *KEAP1* ed un profile di espressione neuroendocrino (alta espressione di *ASCL1* e *DLL3*, bassa espressione di *NOTCH1*), mentre i LCNEC di tipo II hanno mutazioni sia in *TP53* sia in *RB1* ed una ridotta espressione di marcatori neuroendocrini (bassa espressione di *ASCL1* e *DLL3*, alta espressione di *NOTCH1*) ma anche un’aumentata espressione di geni della risposta immunitaria [2]. Non è attualmente noto se questi sottogruppi così definiti siano associati ad una diversità suscettibilità ai trattamenti. Sebbene il LCNEC sia diagnosticato in fase precoce più spesso del SCLC (circa 25% rispetto al 5%, rispettivamente), la sopravvivenza mediana dei pazienti con LCNEC in stadio avanzata è peggiore dei NSCLC ma non significativamente diversa da quelli dei pazienti con SCLC malattia estesa (ED-SCLC), andando da 10 a 16 mesi [1,3]. Nello specifico, in uno studio di fase di chemioterapia con platino-etoposide in 42 pazienti con LCNEC, la sopravvivenza mediana è stata di 7.7 mesi a il tasso di sopravvivenza a 12 mesi è stato del 27% [4]. Tuttavia, in questo studio solo 29 LCNEC sono stati confermati dopo revisione patologica: in questi casi, la sopravvivenza mediana è stata 8.0 mesi, ma il tasso di sopravvivenza a 12 mesi non è stato riportato. Nello studio di fase III randomizzato placebo-controllato IMpower133 che confrontava l’aggiunta di atezolizumab o placebo alla chemioterapia con carboplatino ed etoposide in pazienti affetti da ED-SCLC, sia la sopravvivenza globale che quella libera da progressioni (endpoint coprimary) sono stati migliorati nel braccio atezolizumab rispetto al braccio placebo: la sopravvivenza globale è stata di 12.3 vs 10.3 mesi e la sopravvivenza libera da progressione è stata 5.2 vs 4.3 mesi, nel braccio atezolizumab e nel braccio placebo, rispettivamente [5]. La proporzione di pazienti vivi a 1 anno è stata del 51.7% e del 38.2% nei due bracci, rispettivamente. Nel trial randomizzato open-label di fase III CASPIAN, 268 pazienti affetti da ED-SCLC sono stati trattati con durvalumab più chemioterapia a base di platino ed etoposide e 269 hanno ricevuto solo chemioterapia a base di platino ed etoposide [6]. L’aggiunta di durvalumab ha significativamente migliorato la sopravvivenza globale (l’endpoint primario) rispetto alla sola chemioterapia. La sopravvivenza globale è stata di 13.0 (95%CI: 11.5-14.8) vs 10.3 mesi (95%CI: 9.3-11.2) nel bracci di durvalumab e solo chemioterapia, rispettivamente, con un tasso di sopravvivenza a 12 mesi del 54% e 40%, rispettivamente. Quindi, la combinazione di chemioterapia con carboplatino ed etoposide con un agente che blocchi il checkpoint immunitario PD-1/PD-L1 ha migliorato l’esito delle terapia nel ED-SCLC e rappresenta il nuovo standard terapeutico in questi pazienti. Tuttavia, l’applicabilità di questi dati anche ai LCNEC del polmone è attualmente sconosciuta e studi specifici che esplorino strategie terapeutiche nei pazienti con LCNEC del polmone sono necessari.

**Dati preliminari su durvalumab e l’immunoterapia nei carcinomi neuroendocrini a grandi cellule del polmone**

Il tumore del polmone può evadere la sorveglianza immunitaria utilizzando diversi meccanismi immunosoppressivi, inclusi i “checkpoint immunitari” [7]. La correlazione esistente tra un elevato carico mutazionale e una più alta probabilità di risposta ai trattamenti diretti contro PD-1 osservata nel NSCLC supporta il razionale per l’utilizzo dell’immunoterapia nello SCLC [8,9]. Infatti, tumori con un alto carico mutazionale posso generare con maggiore probabilità neoantigeni tumore-specifici per cui un alto carico mutazionale fornisce un incrementato substrato di bersagli che possono innescare una risposta immune tramite la loro presentazioni alle cellule T [8,10]. Il genoma del LCNEC, proprio come quello dello SCLC, è caratterizzato da elevati carico mutazionale e instabilità genomica.

**Durvalumab** è un anticorpo monoclonale di tipo immunoglobulina umana G1 kappa (IgG1k) con Fc ottimizzato che è in grado di interferire con l’interazione tra PD-1 e PD-L1 e condurre al riconoscimento delle cellule tumorali da parte delle cellule T citotossiche. La monoterapia con durvalumab è approvata nell’adulto dalla Food and Drug Administration (FDA) degli Stati Uniti e dall’Agenzia Europea dei farmaci (EMA) per il trattamento del NSCLC localmente avanzato non resecabile che esprima PD-L1 su ≥1% delle cellule tumorali e che non sia progredito dopo un regime chemioradioterapico a base di platino. I dati dalla coorte di espansione del SCLC di uno studio di fase I/II di durvalumab mostrano un tasso di risposte del 9.5% (N=2/21) con una durata della risposta di 14.6 e 29.5+ mesi, rispettivamente, in pazienti affetti da ED-SCLC non selezionati [11]. La PFS mediana è stata 1.5 mesi, la OS mediana 4.8 mesi e il tasso di sopravvivenza a 12 mesi 27.6%. Lo studio CASPIAN è un fase III multicentrico randomizzato in aperto sponsor-blind disegnato per testare durvalumab con e senza tremelimumab, un anticorpo monoclonale diretto contro CTLA-4, con carboplatino ed etoposide in pazienti affetti da ED-SCLC che non avevano ricevuto trattamenti precedenti. I pazienti sono stati randomizzati con proporzione 1:1:1 a ricevere quindi carboplatino ed etoposide da soli o con l’aggiunti di durvalumab o durvalumab+tremelimumab fino a 6 cicli da 21 giorni ciascuno (fase di induzione), seguiti da una fase di mantenimento durante la quale durvalumab (sia nel braccio della sola aggiunta di durvalumab che in quello di durvalumab+tremelimumab) fino a tossicità inaccettabile, progressione di malattia secondo i Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, version 1.1 o perdita del beneficio clinico. L’endpoint primario era la sopravvivenza globale.I risultati dell’interim analisi del braccio chemioterapia + durvalumab confrontato col braccio di sola chemioterapia sono stati recentemente presentati. In totale, 268 sono stati randomizzati al braccio durvalumab e 269 al braccio con sola chemioterapia. I risultati di questo studio mostrano che dopo 62.6% degli eventi per la sopravvivenza (N=336 tra i bracci durvalumab e chemioterapia da sola), la sopravvivenza mediana è stata di 13.0 mesi nel braccio durvalumab rispetto a 10.3 mesi nel braccio chemioterapia da sola (hazard ratio per la morte, 0.73; intervallo di confidenza al 95% [95%CI], 0.59-0.91; P=0.0047). Il tasso di pazienti vivi a 12 mesi è stato 54$ nel braccio durvalumab contro il 40% nel braccio di sola chemioterapia. La sopravvivenza libera da progressione mediana è stata di 5.1 vs 5.4 mesi, rispettivamente (hazard ratio per progressione di malattia o morte, 0.78; 95%CI 0.65-0.94). Il tasso di risposta globale è stato 67.9% nel braccio durvalumab rispetto a 57.6% nel braccio chemioterapia (odds ration per la risposta, 1.56, 95%CI 1.09-2.22). Il profilo di sicurezza della combinazione di durvalumab e chemioterapia a base di platino ed etoposide è stato simile con quanto riportato da studi precedenti con gli agenti singoli.

Nello specifico, non esistono studi prospettici condotti in pazienti LCNEC. Globalmente, 16 casi di pazienti affetti da LCNEC trattati con inibitori dei checkpoint immunitari sono stati riportati [12], con un tasso di risposte del 60% e una PFS mediana di 57 settimane riportata nella serie più ampia (N=10) [13].

Abbiamo ipotizzato che una strategia di combinazione che include l’immunoterapia con durvalumab con chemioterapia a base di platino sia fattibile ed efficace nel trattamento di pazienti affetti da LCNEC del polmone metastatico. Per provare la nostra ipotesi, disegneremo uno studio a braccio singolo di fase II di durvalumab con carboplatino ed etoposide nella prima linea di trattamento in pazienti affetti da LCNEC del polmone metastatico

* **OBIETTIVI DELLO STUDIO**

**OBIETTIVO #1**: valutare l’efficacia della combinazione di durvalumab con chemioterapia con carboplatino ed etoposide nella prima linea di trattamento in pazienti affetti da LCNEC del polmone metastatico

*Razionale*: l’aggiunta del blocco di PD-(L)1 alla chemioterapia di prima linea a base di platino del ED-SCLC ha migliorato la OS rispetto alla sola chemioterapia in due studi randomizzati controllati di fase III [5,6]. La proporzione di pazienti vivi 1 anno dopo la randomizzazione era del 51.7% e 54% nei bracci contenenti immunoterapia rispetto a 38.2% e 40% dei bracci contenenti sola chemioterapia, negli studi IMpower133 e CASPIAN, rispettivamente. Abbiamo ipotizzato che un’efficacia simile possa essere ottenuta nei LCNEC del polmone.

*Approccio*: uno studio clinic multicentrico a braccio singolo di fase II verrà disegnato. I pazienti che rispetteranno i criteri di inclusione saranno arruolati e trattati con il seguente regime terapeutico:

Carboplatino (AUC 5 il giorno 1), etoposide (100mg/mq nei giorni 1-3), e durvalumab (1500 mg il giorno 1) somministrati per via endovenosa ogni 3 settimane per 4 cicli (**fase di induzione**) fino a progressione di malattia, tossicità inaccettabile, rifiuto del paziente o perdita del beneficio clinico (per durvalumab). Successivamente, il trattamento con durvalumab per via endovenosa (1500 mg il giorno 1) ogni 4 settimane (**fase di mantenimento**) continuerà fino a progressione di malattia, , tossicità inaccettabile, rifiuto del paziente, completamento di 2 anni di trattamento (24 cicli di mantenimento, per un totale di 28 cicli di durvalumab) o perdita del beneficio clinico. L’efficacia del trattamento verrà valutata sulla base della percentuale di pazienti vivi a 1 anno dalla data di arruolamento nello studio (1yr-OS)

**OBIETTIVO #2**: valutare la sicurezza della combinazione di durvalumab con chemioterapia con carboplatino ed etoposide nella prima linea di trattamento in pazienti affetti da LCNEC del polmone metastatico

*Razionale*: la combinazione di diversi agenti antitumorali può potenzialmente aumentare la tossicità e mettere a rischio la sicurezza dei pazienti. Nello specifico, il blocco di PD-(L)1 è stato associato ad effetti collaterali immuno-mediati. Tuttavia, gli eventi avversi più comunemente riportati sono di intensità moderata e per la maggior parte reversibili con la sospensione del farmaco o con trattamento immunosoppressivo (per es. con corticosteroidi).

*Approccio*: la valutazione della sicurezza verrà basata principalmente sulla frequenza degli eventi avversi e la misurazione della tossicità secondo il Common Toxicity Criteria Adverse Event (CTCAE), versione 4.03, nel NCI.

**OBIETTIVO #3**: caratterizzare l’attività della combinazione di durvalumab con chemioterapia con carboplatino ed etoposide nella prima linea di trattamento in pazienti affetti da LCNEC del polmone metastatico

*Razionale*: l’aggiunta del blocco di PD-(L)1 alla chemioterapia di prima linea a base di platino nel ED-SCLC ha permesso di ottenere una PFS di 5.2 e 5.1 mesi nei bracci di immunoterapia rispetto a 4.3 e 5.4 mesi nei bracci di sola chemioterapia, negli studi IMpower133 e CASPIAN, rispettivamente [5,6].

*Approccio*: l’attività sarà valutata tramite il tasso di risposta globale (ORR) e la progressione libera da progressione (PFS). L’ORR è definito come la somma delle risposte complete (CR) e parziali (PR) valutate secondo i criteri RECIST v1.1 (pazienti senza valutazione della risposta di malattia dopo il baseline saranno classificati come non risposte). La PFS verrà calcolata dalla data di arruolamento nello studio fino alla data di progressione radiologica secondo criteri RECIST v1.1 standard, o la morte, qualunque avvenga prima.

**OBIETTIVO #4**: identificare potenziali biomarcatori predittivi di risposta al blocco di PD-(L)1 combinato con chemioterapia con carboplatino ed etoposide nel trattamento in pazienti affetti da LCNEC del polmone metastatico

*Razionale*: Sempre maggiori sforzi vengono fatti per distinguere i LCNEC dalla loro controparte a grandi cellule di origine epiteliale e per caratterizzare ulteriormente i carcinomi neuroendocrini ad alto grado del polmone sulla base delle caratteristiche genomiche e trascrittomiche. Per quanto riguarda il primo punto, nei carcinomi non a piccole cellule del polmone senza una chiara origine neuroendocrina piuttosto che epiteliale, i marcatori tumorali sierici possono fornire delle informazioni utili ad indirizzare la diagnosi e guidare la scelta terapeutica. La presenza di elevati livelli sierici di antigene carcino-embrionario (CEA) o di frammenti della citocheratina 19 (Cyfra 21-1) depongono in favore di un tumore di origine epiteliale, mentre elevati livelli di enolasi neurone-specifica (NSE) depongono a favore di un tumore di origine neuroendocrina. La corretta identificazione dell’origine epiteliale o neuroendocrina è cruciale data la differente suscettibilità ai diversi trattamenti specifici dei diversi tipi di patologie e massimizzare la possibilità di successo dei trattamenti. Rispetto al secondo punto, nel SCLC, il più frequente tumore neuroendocrino ad alto grado del polmone, una classificazione basata su fattori trascrizionali chiave che identifica 4 sottotipi molecolari è stata recentemente proposta [14]. Con analoga metodologia, caratteristiche genomiche e trascrittomiche possono essere utilizzare per identificare almeno due distinti sottotipi di LCNEC molecolarmente definiti. [2]. I LCNEC di tipo I sono caratterizzati da mutazioni in *TP53*, *STK11* and *KEAP1*ed un profilo di espressione neuroendocrino (alta espressione di *ASCL1* e *DLL3*, bassa espressione di *NOTCH1*), mentre i LCNEC di tipo II hanno mutazioni sia in *TP53* sia in *RB1* ed una ridotta espressione di marcatori neuroendocrini (bassa espressione di *ASCL1* e *DLL3*, alta espressione di *NOTCH1*) ma anche un’aumentata espressione di geni della risposta immunitaria [2]. Non è attualmente noto se questi sottogruppi così definiti siano associati ad una diversità suscettibilità ai trattamenti.

*Approccio*: misure di efficacia (1yr-OS, vedi OBIETTIVO #1) e di attività (ORR e PFS, vedi OBIETTIVO #3) saranno confrontato tra i gruppi di pazienti definiti in base al tipo di marcatore tumorale elevato o prevalentemente elevato nel sangue (neuroendocrino vs non-neuroendocrino) e tra i gruppi di pazienti con LCNEC appartenenti ai due tipi molecolari definiti in base ad analisi di genomica e trascrittomica (tipo I vs tipo II), per quei pazienti con campioni di tumore disponibili.

* **STIME DELLE TEMPISTICHE DELLO STUDIO:**

Il follow-up minimo per ciascun paziente sarà di 12 mesi. Se si considera un tasso di arruolamento pari a 26 pazienti/anno tra i 15 centri nazionali partecipanti, l’arruolamento dovrebbe essere completato entro 24 mesi. Trentasei mesi saranno necessari dall’inizio dello studio al completamento del progetto. Ulteriori 3 mesi saranno necessari per la chiusura del database, l’analisi dei dati e produrre il report finale.

* **PIANO DI ANALISI STATISTICA:**

L’endpoint primario dello studio è la sopravvivenza globale (OS), definita come l’intervallo di tempo tra la data di arruolamento e la morte per qualsiasi casa. Gli endpoint secondari dello studio sono: la risposta tumorale secondo criteri RECIST v1.1 [15]; la sopravvivenza libera da progressione (PFS) definite come l’intervallo di tempo tra la data di arruolamento e la data di progressione radiologica secondo criteri RECIST v1.1 standard, o la morte, qualunque avvenga prima; incidenza di eventi avversi seri e non seri.

La probabilità cumulativa di sopravvivenza a 1 anno verrà stimata con il metodo di Kaplan-Meier. Gli intervalli di confidenza al 90% della stima grezza ed il test di ipotesi verranno condotti col metodo di Brookmeyer and Crowley.

Sulla base dei risultati degli studi IMpower133 e CASPIAN (1yr-OS 38-40% nel braccio di controllo, rispetto al 51-54% nel braccio con immunoterapia) e dello studio di fase II di chemioterapia condotto da Le Treut et al (1yr-OS 27%), una proporzione di pazienti vivi a 1 anno dall’arruolamento maggiore del 30% è ritenuta abbastanza considerevole da testare il trattamento in uno studio di fase III. L’ipotesi è che il regime in studio è associato ad una 1yr-OS pari al 45%.

L’ipotesi nulla che la vera 1yr-OS sia <30% verrà testata contro un’alternativa ad una direzione. Verrà arruolato quindi un totale di circa 45 pazienti, più 4 pazienti per compensare un possibile tasso di persi al follow-up del 10%. Questo disegno conferisce un errore di tipo I del 10% ed una potenza dell’80% se la vera 1yr-OS è >45%.

La complessità generale dello studio giustifica un endpoint così ambizioso ed il relativo disegno statistico. Un risultato positivo è considerato raggiungibile anche grazie agli stringenti criteri di inclusione che verranno selezionati.

Il follow-up minimo per ciascun paziente sarà di 12 mesi. Se si assume un tasso di arruolamento pari a 26 pazienti/anni da 15 centri nazionali partecipanti, l’arruolamento dello studio dovrebbe concludersi entro 24 mesi.

**PIANO DI ATTIVITA’**

* Dal 1° gennaio 2023 partecipazione all’arruolamento dei pazienti nell’ambito del protocollo DUPLE, per valutare l’efficacia della combinazione di durvalumab con chemioterapia con carboplatino ed etoposide nella prima linea di trattamento in pazienti affetti da LCNEC del polmone metastatico;
* Valutazione della sicurezza della combinazione di durvalumab con carboplatino ed etoposide mediante l’analisi della tipologia e severità degli effetti collaterali della terapia;
* Caratterizzazione dell’attività della combinazione di durvalumab con carboplatino ed etoposide mediante partecipazione alla valutazione clinica e alla rivalutazione radiologica dei pazienti;
* Identificazione di potenziali biomarkers predittivi di risposta alla terapia di combinazione mediante analisi NGS dei campioni bioptici dei pazienti affetti da LCNEC del polmone metastatico.

**Bibliografia**

1 Glisson BS, Moran CA. Large-Cell Neuroendocrine Carcinoma: Controversies in Diagnosis and Treatment. J Natl Compr Cancer Netw. 2011 Oct;9(10):1122–9.

2 George J, Walter V, Peifer M, Alexandrov LB, Seidel D, Leenders F, et al. Integrative genomic profiling of large-cell neuroendocrine carcinomas reveals distinct subtypes of high-grade neuroendocrine lung tumors. Nat Commun. 2018 Dec;9(1):1048.

3 Asamura H, Kameya T, Matsuno Y, Noguchi M, Tada H, Ishikawa Y, et al. Neuroendocrine Neoplasms of the Lung: A Prognostic Spectrum. J Clin Oncol. 2006 Jan;24(1):70–6.

4 Le Treut J, Sault MC, Lena H, Souquet PJ, Vergnenegre A, Le Caer H, et al. Multicentre phase II study of cisplatin–etoposide chemotherapy for advanced large-cell neuroendocrine lung carcinoma: the GFPC 0302 study. Ann Oncol. 2013 Jun;24(6):1548–52.

5 Horn L, Mansfield AS, Szczęsna A, Havel L, Krzakowski M, Hochmair MJ, et al. First-Line Atezolizumab plus Chemotherapy in Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2018 Dec;379(23):2220–9.

6 Paz-Ares L, Dvorkin M, Chen Y, Reinmuth N, Hotta K, Trukhin D, et al. Durvalumab plus platinum–etoposide versus platinum–etoposide in first-line treatment of extensive-stage small-cell lung cancer (CASPIAN): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. Lancet. 2019 DOI: 10.1016/s0140-6736(19)32222-6

7 Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. Nature. 2011;480(7378):480–9.

8 Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. Science. 2015 Apr;348(6230):124–8.

9 Rizvi H, Sanchez-Vega F, La K, Chatila W, Jonsson P, Halpenny D, et al. Molecular Determinants of Response to Anti–Programmed Cell Death (PD)-1 and Anti–Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) Blockade in Patients With Non–Small-Cell Lung Cancer Profiled With Targeted Next-Generation Sequencing. J Clin Oncol. 2018 Mar;36(7):633–41.

10 Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SAJR, Behjati S, Biankin A V., et al. Signatures of mutational processes in human cancer. Nature. 2013 Aug;500(7463):415–21.

11 Goldman JW, Dowlati A, Antonia SJ, Nemunaitis JJ, Butler MO, Segal NH, et al. Safety and antitumor activity of durvalumab monotherapy in patients with pretreated extensive disease small-cell lung cancer (ED-SCLC). J Clin Oncol. 2018 May;36(15\_suppl):8518.

12 Chauhan A, Arnold SM, Kolesar J, Thomas HE, Evers M, Anthony L. Immune checkpoint inhibitors in large cell neuroendocrine carcinoma: current status. Oncotarget. 2018 Mar;9(18). DOI: 10.18632/oncotarget.24553

13 Levra MG, Mazieres J, Valette CA, Molinier O, Planchard D, Frappat V, et al. P1.07-012 Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors in Large Cell Neuroendocrine Lung Cancer: Results from a French Retrospective Cohort. J Thorac Oncol. 2017 Jan;12(1):S702–3.

14 Rudin CM, Poirier JT, Byers LA, Dive C, Dowlati A, George J, et al. Molecular subtypes of small cell lung cancer: a synthesis of human and mouse model data. Nat Rev Cancer. 2019 May;19(5):289–97.

15 Eisenhauer EAA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LHH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). Eur J Cancer. 2009 Jan;45(2):228–47.