



# TIPIZZAZIONE HLA QUALE BIOMARCATORE NELL'IMMUNOTERAPIA DEI TUMORI

R.E. Saladino <sup>1</sup>, R. Giannicola <sup>2</sup>, G. Romeo <sup>1</sup>, M. Francone <sup>1</sup>, N. Imbesi <sup>1</sup>, V. Arcati <sup>1</sup>, M. Covello <sup>1</sup>, A. Stranges <sup>1</sup>, R. Agostino <sup>3</sup>, E. Iuliano <sup>3</sup>, P. Correale <sup>3</sup>  
 (1) U.O.S.D. TIPIZZAZIONE TISSUTALE G.O.M "BIANCHI MELACRINO MORELLI" REGGIO CALABRIA, (2) U.O.C. ONCOLOGIA G.O.M "BIANCHI MELACRINO MORELLI" REGGIO CALABRIA, (3) U.O.C. ONCOLOGIA G.O.M "BIANCHI MELACRINO MORELLI" REGGIO CALABRIA

## Introduzione:

Il sistema immunitario svolge un ruolo chiave nello sviluppo e nella progressione tumorale attraverso la risposta innata ed adattiva. Gli studi degli ultimi decenni hanno permesso di chiarire meglio i meccanismi immunologici e l'immunoterapia si è di conseguenza sviluppata con l'utilizzo di anticorpi monoclonali che agiscono non direttamente sulla cellula tumorale ma su specifici recettori cellulari o loro ligandi attivando la risposta immune (1-2). L'efficacia di questi farmaci dipende dalla presenza di linfociti T citotossici infiltranti il tessuto tumorale che esprimono un TCR in grado di riconoscere peptidi della lunghezza di circa 9-10 aminoacidi derivati da antigeni tumore associati e/o tumore specifici legati a molecole HLA di classe I (3). Altre sottopopolazioni di linfociti T (Helper/regolatori) esprimono invece un TCR in grado di riconoscere peptidi da antigeni tumorali ma di maggiori dimensioni e legati alle molecole HLA di classe II. I peptidi derivano da meccanismi di proteolisi intracellulare ed il loro legame alle molecole sia di I che di II classe, che avviene all'interno del reticolo endoplasmatico, è HLA affinità dipendente (3-7,10,11). HLA di I e II Classe e peptidi derivati da tumore concorrono in egual modo a attivare il meccanismo di immuno-priming che promuove l'espansione clonale di linfociti citotossici peptide specifici (8, 9). Si è altresì osservato che alcuni pazienti nel corso del trattamento con immunoterapici sviluppano autoanticorpi, ma questi stessi pazienti hanno maggiore sopravvivenza rispetto a quelli con autoimmunità negativa (12).

La tipizzazione HLA, dato il ruolo dell'MHC nell'attivazione della risposta immunitaria potrebbe dunque essere un valido biomarcatore di predittività nel trattamento con questa tipologia di immunoterapici, ma diventa anche interessante la ricerca di eventuale frequenza allelica all'interno della popolazione affetta, la presenza di eventuali alleli Adverse Drug Reaction e patologie autoimmuni correlati (13).

Il nostro studio retrospettivo, ancora in corso, è stato avviato in collaborazione con l'U.O.C. di Oncologia del nostro G.O.M. su 95 pazienti affetti da tumore metastatico del polmone non a piccole cellule (mNSCLC) in trattamento con immunoterapici diretti contro PD-1 (Programmed cell death receptor-1) e PD-1 ligand da settembre 2015 a dicembre 2018.

## Materiali e metodi:

Su 95 campioni di DNA genomico estratto da sangue intero e PBMC con metodica automatica su magnetic beads, è stata eseguita la tipizzazione HLA per i loci A,B,C, DRB1 in bassa-media definizione con metodica reverse SSO-Luminex. (One-Lambda Luminex Technology LABScan™ 100, HLA Fusion™ Software). Le tipizzazioni per lo studio di frequenza allelica sono state confrontate in percentuale con quelle di 4000 donatori sani iscritti al nostro Registro Regionale.

## Risultati:

Gli alleli maggiormente frequenti nella popolazione di pazienti sono risultati A\*02 (51.1%) e A\*01 (32.6%); B\*18 (26.7%) B\*51 (18.6%); C\*07 (48.8%) C\*04 (25.6%); DRB1\*11 (44.2%) e DRB1\*03 (22.1%).

Tutti i pazienti che hanno sviluppato positività agli autoanticorpi hanno almeno un allele di prima e/o seconda classe correlato a patologia autoimmune, e sono eterozigoti sul locus DRB1.

I pazienti A\*01 e DRB1\*03 presentano outcome migliore in termini di progressione della malattia e di sopravvivenza rispetto a quelli con A\*02 e C\*07, ed omozigosi al locus DRB1.

Per 5 pazienti è stato necessario sospendere il trattamento farmacologico per lo sviluppo di polmonite; 4 di essi presentano l'aplotipo A\*02/A\*24, B\*18, C\*07, DRB1\*11, il quinto paziente presenta comunque A\*24 e DRB1\*11: il dato se confermato su un numero maggiore di pazienti potrebbe indicare ADR allele/aplotipo correlate.

## Discussione:

I dati ottenuti, data anche l'esiguità numerica del campione non consentono di indicare una specifica, particolare frequenza allelica nella popolazione studiata.

L'insorgenza di autoimmunità, sebbene associata a migliore outcome e maggiore frequenza ad alcuni alleli HLA nella popolazione studiata (A\*01, A\*02, B\*18, B\*35, B\*51, C\*04, C\*07, DRB1\*03, DRB1\*11) è più da considerarsi come parte di un processo antigenico a cascata o di migrazione di antigeni, anche se è in fase di valutazione la correlazione allelica di suscettibilità, comunque riscontrato nei diversi soggetti, patologia specifica.

In termini di sopravvivenza ed outcome della malattia invece si è osservato che i pazienti che esprimono gli alleli HLA- A\*01 e/o DRB1\*03, ed eterozigosi al locus DRB1 hanno una migliore risposta rispetto ad A\*02, C\*07, a sostegno del fatto che la risposta immunitaria varia in base al pool di peptidi derivati da antigeni tumorali ed alla loro affinità di legame alle diverse molecole HLA, così come l'omozigosi ai diversi loci comporta una riduzione numerica dei peptidi utilizzabili ai fini della risposta CTL mediata rispetto alla condizione di eterozigosi.

Di particolare interesse e da approfondire ai fini di possibile Adverse Drug Reaction allele/aplotipo HLA correlata, il riscontro dell'espressione dell'aplotipo HLA-A\*02/A\*24, B\*18, C\*07, DRB1\*11 su quattro, e degli alleli HLA-A\*24, DRB1\*11 su uno di cinque pazienti che hanno sviluppato polmonite con conseguente necessaria interruzione del trattamento farmacologico.

## Conclusioni:

I dati riscontrati, sebbene da confermare e validare con studio prospettico su una popolazione di pazienti più omogenea e statisticamente più ampia, indicano che la tipizzazione HLA può essere utilizzata come test predittivo di risposta all'immunoterapia dei tumori.

## BIBLIOGRAFIA:

- Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. Nat Rev Cancer. 2012;12(4):252-64.
- Creelan BC. Update on immune checkpoint inhibitors in lung cancer. Cancer Control. 2014;21(1):80-9.
- Wolfel T, Kleinmann E, Muller S, Schutt KH, Meyer zum Buschenfelde KH, Knuth A. Lysis of human melanoma cells by autologous cytolytic T cell clones. Identification of human histocompatibility leukocyte antigen A2 as a restriction element for three different antigens. J Exp Med. 1989;170(3):797-810.
- Crowley NJ, Dantow TL, Quinn-Allen MA, Seigler HF. MHC-restricted recognition of autologous melanoma by tumor-specific cytotoxic T cells. Evidence for restriction by a dominant HLA-A allele. The Journal of Immunology. 1991;146(5):1692-9.
- Falk K, Rotzschke G, Stevanovic S, Jung G, Rammensee HG. Allele-specific motifs revealed by sequencing of self-peptides eluted from MHC molecules. Nature. 1991;351(6324):290-6.
- Hunt DF, Henderson RA, Shabanowitz J, Sakaguchi K, Michel H, Sevilir N, et al. Characterization of peptides bound to the class I MHC molecule HLA-A2.1 by mass spectrometry. Science. 1992;255(5049):1261-3.
- McDonnell AM, Robinson BW, Currie AJ. Tumor antigen cross-presentation and the dendritic cell: where it all begins? Clin Dev Immunol. 2010;2010:539519.
- Sanchez-Paulete AR, Teixeira A, Cueto FJ, Garasa S, Perez-Gracia JL, Sanchez-Arreaez A, et al. Antigen cross-presentation and T-cell cross-priming in cancer immunology and immunotherapy. Ann Oncol. 2017;28(suppl\_12):xii44-xii35.
- Gettinger S, Choi J, Hastings K, Truini A, Datar I, Sowell R, et al. Impaired HLA Class I Antigen Processing and Presentation as a Mechanism of Acquired Resistance to Immune Checkpoint Inhibitors in Lung Cancer. Cancer Discov. 2017;7(12):1420-35.
- Rammensee H, Bachmann J, Emmerich NP, Bachor OA, Stevanovic S. SYFPEITHI: database for MHC ligands and peptide motifs. Immunogenetics. 1999;50(3-4):213-9.
- Paul S, Weiskopf D, Angelo MA, Sidney J, Peters B, Sette A. HLA class I alleles are associated with peptide-binding repertoires of different size, affinity, and immunogenicity. J Immunol. 2013;191(12):5831-9.
- Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1987;30(11):1205-13.
- Giannicola R, D'Arrigo G, Botta C, Agostino R, Del Medico P, Falzea AC, et al. Early blood rise in auto-antibodies to nuclear and smooth muscle antigens is predictive of prolonged survival and autoimmunity in metastatic-non-small cell lung cancer patients treated with PD-1 immune-check point blockade by nivolumab. Mol Clin Oncol. 2019;11(1):81-90.