

# **Proof-of-concept per il trattamento del neuroblastoma con un coniugato anticorpo anti-B7-H3/farmaco citotossico (ADC) e la sua combinazione con l'inibizione dell'asse PD-1/PD-L1**

**Proponete:** Ponzoni Mirco, Laboratorio Terapie Sperimentali in Oncologia, IGG (UO1)

## **Collaboratori principali:**

UO2: Bottino Cristina, Laboratorio Immunologia Clinica e Sperimentale, IGG

UO3: Garaventa Alberto, Oncologia Clinica, IGG

## **Collaboratore esterno:**

Ezio Bonvini, MacroGenics Inc., Rockville, MD, USA

## **Sommario.**

I coniugati anticorpo-farmaco (ADC) sono una classe di agenti anti-tumorali in rapida evoluzione che combinano le proprietà bersaglio degli anticorpi con gli effetti anti-tumorali dei potenti farmaci citotossici. L'introduzione più recente di ADC basati su legami clivabili può anche superare le limitazioni dovute all'eterogeneità dell'espressione del bersaglio e/o alla modulazione dell'antigene grazie all' "effetto bystander". Proponiamo qui di fornire, in modelli di topo clinicamente rilevanti, la prova preclinica della possibilità di utilizzo di un ADC verso la proteina di superficie cellulare B7-H3, come intervento per il trattamento del neuroblastoma ad alto rischio. Oltre alla lisi tumorale diretta, una strategia basata sull'ADC dovrebbe innescare efficacemente l'attività citolitica anti-tumorale delle cellule NK. L'asse del checkpoint immunitario PD-1/PD-L1, tuttavia, può inibire le risposte immunitarie. Questa proposta esplorerà ulteriormente se il targeting di B7-H3/ADC possa sinergizzare con l'interruzione, mediante blocco mediato da anticorpi o silenziamento indotto da siRNA, dell'asse PD-1/PD-L1.

## **Stato dell'arte.**

Il trattamento efficace del neuroblastoma avanzato (NB) rappresenta una delle maggiori sfide dell'oncologia pediatrica. Lo sviluppo di strategie terapeutiche basate sull'immunità è un approccio terapeutico promettente. A oggi, solo un anticorpo monoclonale chimerico (mAb), dinutuximab, specifico per il disialoganglioside GD<sub>2</sub>, è stato approvato in USA e in Europa e ha mostrato alcuni benefici clinici nel NB ad alto rischio (1). La terapia di infusione con dinutuximab, tuttavia, è associata a gravi reazioni avverse e neurotossicità; inoltre, almeno la metà dei pazienti trattati vanno incontro a recidiva(2,3). Il recente successo della terapia basata sull'utilizzo di cellule CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T-cell) nella leucemia infantile ha aperto opportunità traslazionali per applicare questo approccio immunoterapico al NB (4), ma i tassi di risposta nei pazienti che ricevono GD2.CAR-Ts sono deludenti, con tossicità correlata e ricorrenza di malattia ancora irrisolta. Studi recenti hanno dichiarato B7-H3, GPC2 e DLK1 come potenziali bersagli

immunoterapici per il NB, fornendo una base per l'ulteriore sviluppo di terapie immunitarie mirate. Per essere un bersaglio immunoterapico sicuro, una molecola della superficie cellulare deve mostrare un'espressione superficiale cellulare assente o molto limitata sui tessuti umani normali (5). B7-H3 è un obiettivo promettente, a causa della sua elevata espressione sulla superficie cellulare di una vasta gamma di tumori, incluso il NB, insieme alla sovra-espressione nella vascolatura e nello stroma associati al tumore, mentre mostra un'espressione limitata nei tessuti normali (6,7). Le cellule sperimentali B7-H3.CAR-T hanno dimostrato una potente attività anti-tumorale contro vari tumori solidi esprimenti B7-H3, incluso il NB, nei modelli murini (8,9). B7-H3 è una proteina transmembrana di tipo I appartenente alla famiglia dei modulatori immunitari B7 che sembra avere sia funzioni di inibizione immunitaria che proprietà di crescita e resistenza autonome tumorali. La sua sovra-espressione è spesso associata a un minor numero di linfociti infiltranti il tumore e a prognosi sfavorevole in una vasta gamma di tumori (10,11). Gli studi clinici di fase I con mAb specifici per B7-H3 in vari tumori hanno mostrato buoni profili di tollerabilità. L'attività dei mAb anti-B7-H3 o delle cellule CAR-T è intimamente legata ai livelli di espressione e alla distribuzione del target che possono essere eterogenei (5,7,8). Inoltre, l'inespresso di B7-H3 può provocare effetti collaterali indesiderati poiché questa molecola ha dimostrato di promuovere la carcinogenesi e la metastatizzazione. Pertanto, per essere più efficaci le nuove strategie terapeutiche dovrebbero superare o tenere in considerazione queste possibili bio-barriere. I coniugati anticorpo-farmaco (ADC) sono una classe di agenti anti-tumorali in forte espansione. Essi combinano le proprietà bersaglio dei mAb e l'attivazione delle cellule NK, con gli effetti di potenti farmaci citotossici. L'ADC basato su legami clivabili può superare inoltre le limitazioni dovute all'eterogeneità dell'espressione del bersaglio e/o alla modulazione negativa dell'antigene, grazie agli effetti bystander sulle cellule limitrofe (12). Un payload (farmaco citotossico) innovativo, il cui meccanismo d'azione è indipendente dal ciclo cellulare, può anche colpire le cellule quiescenti, comprese le cellule staminali tumorali, spesso responsabili della progressione post trattamento chemioterapico standard.

MGC018 è un ADC sperimentale in fase clinica basato su un mAb anti-B7-H3 umanizzato coniugato tramite un legame clivabile a vc-seco-DUocarmycin-hydroxyBenzamide Azaindole, il cui metabolita finale agisce come un potente agente che non interferisce con il ciclo cellulare, ma comunque agisce danneggiando il DNA. MGC018 ha mostrato attività preclinica in diversi modelli di xenotrapianto tumorale (12,13) ed è attualmente valutato in Fase I-II in pazienti con tumori solidi dell'adulto.

Questo progetto ha lo scopo di valutare l'efficacia di MGC018 in modelli di NB sia in vitro che in vivo. Bisogna sottolineare, tuttavia, che le cellule di NB, così come la vascolatura del tumore, possono sfuggire alla sorveglianza immunitaria grazie all'espressione di ligandi inibitori di checkpoint immunitari, come il PD-L1 (6,14,15). Ciò avviene durante la progressione del tumore o in risposta al rilascio di IFN-gamma, come effetto collaterale indesiderato dell'attivazione delle risposte immunitarie (16,17).

Pertanto, gli approcci terapeutici volti a ripristinare e/o potenziare la funzione immunitaria nei pazienti affetti da NB dovrebbero includere la terapia che combina il targeting di B7-H3 e il blocco PD-1/PD-L1.

### **Ipotesi e significato.**

Le recidive e la resistenza alla chemioterapia sono problemi persistenti in oncologia pediatrica, in particolare nei bambini affetti da NB avanzato. Il disegno di protocolli terapeutici innovativi ed efficaci rappresenta quindi una grande sfida. Il nostro obiettivo è sviluppare nuove immunoterapie specifiche per il neuroblastoma. Ci aspettiamo di fornire, in vitro e in vivo, dati a supporto dei seguenti concetti:

- i)* Il targeting di B7-H3 con MGC018, un ADC a base di duocarmicina, è una promettente strategia terapeutica per il NB;
  - ii)* La combinazione di MGC018 con il blocco del checkpoint immunitario PD-1/PD-L1, mediato da mAb specifici, dovrebbe migliorarne l'efficacia terapeutica;
  - iii)* Il silenziamento del PD-L1 nelle cellule di NB e nella vascolatura tumorale aumenterebbe la loro suscettibilità all'uccisione mediata dalle cellule NK e ridurrebbe l'aggressività delle cellule di NB.
- In caso di successo, questi studi forniranno le basi scientifiche per il trattamento dei pazienti affetti da NB con MGC018, da solo o in combinazione con il blocco del checkpoint immunitario PD-1/PD-L1, come nuova strategia per migliorare le risposte immunitarie anti-NB, riducendo al contempo la tossicità associata ai regimi di chemioterapia intensiva attualmente utilizzati.

### **Dati preliminari.**

Abbiamo visto che B7-H3 è espresso in linee cellulari di NB e in cellule di NB derivate da pazienti in stadio 4 (6,7,10,11). Al contrario, l'espressione di PD-L1 e PD-L2 è eterogenea; tuttavia l'IFN-gamma, che viene rilasciato dalle cellule NK attivate, regola ed induce la loro espressione nelle cellule di NB (principalmente di PD-L1, 16) e nelle cellule endoteliali tumorali. È importante sottolineare che le cellule endoteliali tumorali primarie mostrano un'alta espressione di PVR e nectina-2, che inducono la citotossicità delle cellule NK, ed esprimono a livello costituzionale alti livelli di B7-H3.

Il targeting di B7-H3 con MGC018 in una gamma di linee cellulari tumorali (derivate da tumori dell'adulto) positive per B7-H3 induce la morte cellulare in maniera significativamente importante. Stiamo ottenendo risultati simili nelle linee cellulari di NB.

Al fine di silenziare selettivamente PD-L1 nelle linee cellulari di NB, sono state progettate formulazioni liposomiali intrappolanti siRNA selettivi per PD-L1, sulla base di nostri precedenti lavori (target anticorpale, 18-20), ottenendo liposomi selettivamente veicolati al NB (TL). L'efficacia di liposomi veicolanti siRNA anti-PD-L1 e diretti contro cellule di NB saranno confrontati, in termini di efficacia anti-tumorale, con i liposomi disegnati per il targeting della vascolatura tumorale (target peptide, 21,22). In effetti, abbiamo identificato un nuovo ligando peptidico per la somministrazione mirata del farmaco al tumore e alla vascolatura tumorale nel NB (23). La formulazione peptide-TL caricata con doxorubicina ha aumentato la permeabilità e la perfusione del tumore, migliorando la penetrazione nel tumore e l'efficacia del farmaco (23,24).

### **Obiettivi specifici.**

**Scopo 1. a)** Convalidare definitivamente B7-H3 come target terapeutico per NB. **b)** Fornire risultati per l'uso della B7-H3/ADC a base di duocarmicina come strategia terapeutica per la cura del NB.

**Scopo 2.** Ridurre la funzione pro-tumorale/immunomodulante dell'asse PD-1/PD-L1 compromettendone l'espressione, grazie all'utilizzo di: **a)** mAb specifici e **b)** PD-L1-siRNA veicolati da TL.

**Scopo 3. a)** Valutare se il targeting del B7-H3 con ADC può sinergizzare con il blocco mediato

dall'mAb o il silenziamento dell'asse PD-1/PD-L1 in modelli di NB clinicamente rilevanti. **b)** Sensibilizzare le cellule di NB alla chemioterapia convenzionale mediante l'uso della combinazione più performante. **c)** Disegnare un protocollo immunoterapico clinico di fase I-II.

### **Disegno sperimentale.**

Valuteremo l'efficacia della B7-H3/ADC a base di duocarmicina, MGC018, inizialmente in vitro, in base all'efficienza di legame alle cellule che esprimono B7-H3, all'inibizione della crescita cellulare, della vitalità cellulare e all'induzione dell'apoptosi, in un pannello certificato di linee cellulari di NB e cellule endoteliali tumorali; quindi in modelli di topo clinicamente rilevanti ottenuti mediante xenotrapianti di cellule di NB murine trasfettate con B7-H3 umano, o di linee cellulari di NB umano o campioni di NB provenienti da pazienti (PDX). Si eseguiranno test di: radiografia, imaging con bioluminescenza (BLI) e microPET, riduzione della massa tumorale, ritardo nella crescita tumorale, riduzione dell'infiltrazione del midollo osseo e numero di metastasi. Inoltre, verranno testati la tossicità sistemica e le immunoreazioni. Infine, verranno eseguite valutazioni istologiche dei tumori e degli organi sani.

### **Metodologie e analisi statistiche.**

**Efficacia in vitro di MGC018:** MGC018 e i relativi anticorpi non coniugati e di controllo saranno forniti da MacroGenics, Inc. Tutte le linee cellulari di NB, testate per la contaminazione da micoplasmi e autenticate mediante analisi degli STR, saranno analizzate per l'espressione di superficie di B7-H3 mediante citometria a flusso utilizzando una versione fluorescente di MGC018. La suscettibilità delle linee cellulari NB a MGC018 sarà valutata mediante: proliferazione cellulare, vitalità, scratch test e saggi basati su cellule in 3D.

**Efficacia terapeutica preclinica in vivo di MGC018:** le linee cellulari umane di NB verranno impiantate in topi nudi per stabilire modelli animali ortotopici (18-25). Le cellule murine di NB, NX-S2 trasdotte con B7-H3 umano, verranno impiantate ortotopicamente nei topi A/J. I modelli PDX saranno stabiliti mediante impianto ortotopico in topi immunodepressi NSG di cellule tumorali derivate post mortem dal sangue di pazienti deceduti a causa di NB progressivo ad alto rischio o da espunti di tumore freschi o crioconservati. Tutti i protocolli in vivo sono stati rivisti e approvati dal Comitato per le Licenze e l'Etica del Ministero della Salute Italiano (progetto n. : 661/2016-PR, PI: MP). L'attività anti-tumorale dei vari approcci terapeutici sarà valutata come riportato nel paragrafo del disegno sperimentale.

In breve: l'attività di MGC018 sarà valutata in modelli ortotopici, con cellule di NB che esprimono livelli variabili di B7-H3. I topi saranno trattati al giorno 14 i.v. con 1 mg/kg (1 o 4 trattamenti) di MGC018 (13), anti-B7-H3 mAb non coniugato e IgG1 umana di controllo coniugata con tossina. Altri gruppi di animali saranno trattati 21 giorni dopo l'impianto delle cellule tumorali (modello refrattario stabilizzato) e nel modello resecato/recidivato (26) con una combinazione di Topotecan e Temozolmide, seguendo il protocollo eseguito in pazienti affetti da NB ad alto rischio (ToTem, 27). Quando saranno evidenti segni di cattiva salute, metà dei topi trattati con ToTem saranno inoculati con MGC018 (o un mAb di controllo) e i topi saranno valutati come sopra. Le sezioni tumorali saranno colorate con anticorpi specifici per rilevare la proliferazione cellulare, la fosforilazione dell'istone dipendente dal danno del DNA, l'apoptosi, l'angiogenesi e i marcatori

correlati all'invasività del tumore. Verranno eseguite analisi morfometriche.

**Test in vitro di TL [siRNA] e di mAbs:** i siRNA per PD-L1 umano saranno testati su linee cellulari di NB. I siRNA selezionati saranno incapsulati nei liposomi per ottenere un intrappolamento > 90%. Verrà verificata la stabilità delle nanoparticelle e l'eventuale perdita di siRNA dai liposomi. I liposomi che intrappolano siRNA, TL[siRNA], con targeting alle cellule di NB (anti-GD<sub>2</sub>) o funzionalizzati con peptidi, saranno preparati come descritto con le opportune modifiche (19,20). Gli effetti di TL e di mAbs sull'espressione di PD-L1 saranno valutati nelle cellule endoteliali e tumorali (non trattate o trattate con IFN $\gamma$ ). Le cellule saranno analizzate per l'espressione superficiale del PD-L1, la suscettibilità all'uccisione mediata da cellule NK a riposo o stimulate dalle citochine (analisi <sup>51</sup>Cr-release e CD107a) (16,17).

**Studi terapeutici combinati:** selezioneremo il TL [siRNA] che induce il knockdown ottimale di PD-L1 e la più forte ricostituzione dell'attività anti-tumorale NK. Questo sarà combinato con MGC018, singolarmente o in combinazione con mAb bloccante. Le combinazioni più efficaci verranno infine valutate in sinergia con ToTem nei modelli PDX.

**Progettazione della sperimentazione clinica:** lo studio clinico sarà uno studio di fase I/II, multicentrico, in aperto, a braccio singolo per valutare la sicurezza, la tollerabilità, l'immunogenicità e l'efficacia preliminare del trattamento in pazienti con NB recidivante o refrattario. La porzione di Fase I utilizza un design di escalation della dose del paziente rolling-6 e la porzione di Fase II utilizza un design mini-max a due stadi Simon per monitorare l'arruolamento del paziente.

**Analisi statistiche:** il significato statistico dei risultati differenziali tra gruppi sperimentali e controlli sarà determinato dal test t di Student (correzione di Welch) o dall'ANOVA (test di confronto multiplo di Tukey). Il significato delle differenze tra i gruppi sarà determinato dalle curve di Kaplan-Meier (test log-rank di Peto).

### **Risultati previsti.**

Il nostro progetto mira a sviluppare terapie specifiche a base immunitaria per il NB. Ci aspettiamo che:

- i) Il trattamento con MGC018 induca la regressione del tumore nei modelli murini di NB stabilizzato e migliori la sopravvivenza nel modello di malattia residua minima e nei topi portatori di NB refrattari/resistenti alla chemioterapia.
- ii) Le combinazioni terapeutiche emerse dallo studio mostrino effetti sinergici e riducano la tossicità associata ai regimi di chemioterapia intensiva attualmente utilizzati.
- iii) L'integrazione della immunoterapia mirata potrebbe essere testata nell'ambito di studi clinici prospettici per migliorare la sopravvivenza nei pazienti NB ad alto rischio.

### **Analisi dei rischi, possibili problemi e soluzioni.**

Studi d'immunoterapia nei tumori solidi dell'adulto hanno dimostrato che un'espressione modesta delle molecole bersaglio non è sufficiente per suscitare citotossicità mediata da ADC. In tal caso, sarà importante determinare se la densità del recettore e l'eterogeneità intra-tumorale influenzano l'efficacia di un approccio B7-H3/ADC. Per risolvere questo problema, potrebbe essere

necessario sviluppare un test quantitativo di espressione B7-H3 per selezionare pazienti idonei per futuri studi clinici.

Un'ulteriore possibile limitazione potrebbe essere il trattamento con i liposomi quando iniettati per via endovenosa a tumori solidi più avanzati, poiché una barriera del sito di legame o altri meccanismi di compromissione della diffusione possono limitare la penetrazione delle nanoparticelle nel tumore. In tal caso, verrà testata una nuova piattaforma di erogazione sistemica di siRNA denominata Aonys® (una tecnologia di microemulsione acqua in olio, [www.medesispharma.com](http://www.medesispharma.com)).

La resistenza a più farmaci può ostacolare il trattamento con agenti chemioterapici, compresi gli ADC. Duocarmicina, tuttavia, appare un substrato scarso per MDR, una caratteristica favorevole nel trattamento del NB. Meccanismi di resistenza mediata da MDR saranno comunque considerati in caso di resistenza osservata.

### **Significato e innovazione.**

E' necessario superare la resistenza alla chemioterapia, un problema frequente durante il trattamento del cancro, per migliorare l'esito clinico dei bambini con NB avanzato. Lo sviluppo di una nuova generazione di immunoterapici anti-tumoralis, basato su combinazioni multi-target con efficacia migliorata e ridotta tossicità, dovrebbe migliorare la prognosi dei pazienti affetti da NB, recidiva/refrattaria alla chemioterapia, fornendo buone basi per future terapie personalizzate. I nostri risultati dovrebbero supportare lo sviluppo clinico di MGC018 come ADC terapeutico per NB che esprime B7-H3.

Gli approcci terapeutici volti a ripristinare e/o potenziare la funzione immunitaria del paziente dovrebbero combinare la terapia mirata con l'inibizione del checkpoint immunitario. Il nostro progetto mira a stabilire protocolli terapeutici innovativi per ridurre l'espressione nel NB e nella vascolatura tumorale del PD-L1, noto per promuovere la progressione del tumore e inibire l'attacco mediato dalle cellule NK.

### **Descrizione della complementarità e sinergia del gruppo di ricerca.**

L'IRCCS Giannina Gaslini (IGG) rappresenta il Centro di coordinamento italiano per il neuroblastoma. L'applicazione deriva direttamente dal background dei candidati che hanno competenze complementari, in particolare in biologia cellulare, biochimica e biologia molecolare del NB, terapie mirate, immunologia dei tumori e cura di pazienti pediatriche affette da tumore. UO1 ha una lunga esperienza documentata nel targeting per farmaci, nella tecnologia dei liposomi, nella progettazione e nella sperimentazione di nuovi approcci terapeutici nei modelli preclinici di NB. UO2 è composto da affermati immunologi che hanno generato una notevole quantità di conoscenza sulla funzione delle cellule NK umane, sui meccanismi immuno-molecolari associati al tumore, sulle risposte immunitarie anti-tumoralis e sui meccanismi di fuga e hanno identificato il ligando del checkpoint immunitario B7-H3. Gli oncologi clinici della UO3 hanno una grande esperienza nel trattamento di tumori ematologici e solidi, come il NB, e hanno un'interazione collaborativa duratura con UO1. UO1 e UO2 hanno recentemente avviato una stretta cooperazione volta a scoprire strategie terapeutiche innovative in grado di ripristinare/aumentare

le risposte immunitarie contro il NB. MacroGenics, Inc., Company biotech americana in prima linea per la sperimentazione di nuovi approcci immunoterapici, fornirà MGC018 e altri reagenti correlati. Il dott. Ezio Bonvini, Chief Scientific Officer di MacroGenics, fornirà un'esperta consulenza sui test sperimentali non clinici dell'ADC.

I ricercatori comunicheranno e condivideranno le decisioni su base continuativa per telefono, posta e riunioni dedicate. Le decisioni sulle direzioni scientifiche saranno discusse quando necessario.

### **Formazione e tutorial.**

Il team di ricerca è multidisciplinare e integra l'ambiente culturale IRCCS e universitario. Uno Junior Investigator (dottorando) e un tecnico parteciperanno alle attività di ricerca concernente il progetto.

Due studenti di biotecnologia e uno di biologia stanno lavorando allo "Sviluppo di agenti anti-tumorali per il trattamento dei tumori solidi pediatrici" e le tesi saranno discusse nel 2021.

Un dottorando di ricerca straniero è stato arruolato nel 2019 per l'addestramento alle tecniche dei liposomi e il loro uso negli approcci di terapia genica del cancro.

Un dottorato da un gruppo di collaboratori stranieri sarà formato nel 2020 su terapie sperimentali in vari modelli animali di neuroblastoma clinicamente rilevanti.

### **Cronologia / Prodotti / Pietre miliari.**

Nei primi due anni, testeremo l'efficacia in vitro di MGC018 valutando: efficienza di legame alle cellule che esprimono B7-H3, inibizione della crescita cellulare, vitalità cellulare e induzione dell'apoptosi nelle linee cellulari NB e cellule derivate da pazienti; NB-PDX verranno generati. Nel primo anno verranno selezionati siRNA che silenziano l'espressione di PD-L1 e la sopravvivenza delle cellule NB e verranno definiti e testati nuovi siRNA-TL in test in vitro.

Nella seconda metà del primo anno e nel secondo anno, le attività anti-tumorali di MGC018, siRNA-TL mirato e specifici mAb PD-1/PD-L1 saranno valutate in modelli murini di NB clinicamente rilevanti. Negli ultimi sei mesi del secondo e nei primi sei mesi del terzo anno, verrà testata la potenzialità di combinare diversi approcci immunoterapici. Nel terzo anno, la combinazione più efficace di immunoterapie mirate sarà valutata in sinergia con la chemioterapia convenzionale e verrà definito un protocollo clinico di fase I-II.

***Pietre miliari 18 mesi:*** Test in vitro e in vivo su MGC018. Preparazione delle formulazioni liposomiali PD-L1-siRNA mirati; silenziamento mirato dei geni PD-L1 e test. Generazione di modelli NB-PDX.

***Pietre miliari 36 mesi:*** Perseguimento dell'inibizione dei punti di controllo immunologico B7-H3 e dell'asse PD-1/PD-L1 e del silenziamento del gene PD-L1 mediato dal siRNA specifico come immunoterapie mirate combinate per il NB. Miglioramento dell'indice terapeutico della chemioterapia convenzionale mediante l'uso di approcci immunoterapici mirati. Valutazione concettuale dei dati e creazione di ipotesi di lavoro. Poiché MGC018 è già GLP, progettazione di studi di fase I-II per test clinici.

### **Rilevanza e impatto traslazionale per il SSN.**

La nostra applicazione soddisfa i principali obiettivi di Horizon 2020 dell'UE, che è quello di sviluppare nuove opzioni terapeutiche con un potenziale impatto socio-economico e benefici concreti per i pazienti affetti da una malattia rara. Il nostro progetto è estremamente rilevante per l'oncologia pediatrica e per il Servizio Sanitario Nazionale, poiché l'obiettivo finale è quello di tradurre i risultati in pratica clinica. L'approccio immunoterapico combinatorio proposto è molto promettente e potrebbe contribuire a ridurre la tossicità e migliorare l'esito clinico dei tumori NB e di altri tumori positivi per B7-H3. I risultati costituiranno la base fondamentale per gli studi sequenziali di Fase I/II. Dato che MGC018 è attualmente in fase di studi di Fase I in pazienti con tumori solidi dell'adulto (ha già effettuato test di tossicità non clinici per supportare studi iniziali sull'uomo), si prevede una rapida traslabilità in uno studio di Fase I sulla sicurezza e l'attività preliminare in pazienti con NB, supportato dai dati generati nell'ambito di questa proposta

### **Bibliografia:**

1. Ladenstein R et al Lancet Oncol 2018; PMID: 30442501
2. Mody R et al Lancet Oncol 2017; PMID: 28549783
3. Greenwood KL et al. Opinioni degli esperti Drug Saf 2018; PMID: 30433831
4. MacFarland S et al Curr Opinioni Pediatr 2019; PMID: 30480556
5. Sano R et al Sci Transl Med 2019; PMID: 30867324
6. Castriconi R et al PNAS 2004; PMID: 15314238
7. Seaman S et al Can Cell 2017; PMID: 28399408
8. Du H et al Can Cell 2019; PMID: 30753824
9. Majzner RG et al Clin Cancer Res 2019; PMID: 30655315
10. Inamura K et al Lung Cancer 2017; PMID: 28024695
11. Benzon B et al Prostate Cancer Prostatic Dis 2017; PMID: 27801901
12. Son T et al Experimental and Molecular Therapeutics 2017, Abs 42, DOI: 10.1158 / 1538-7445.AM2017-42
13. Scribner JA et al Experimental and Molecular Therapeutics 2018, Abs. 820, DOI: 10.1158 / 1538-7445.AM2018-820
14. Bottino C et al Front Immunol 2014; PMID: 24575100
15. Shin DS et al Curr Opinioni Immunol 2015; PMID: 25621841
16. Dondero A et al Oncoimmunol 2015; PMID: 26942080
17. Dondero A et al Oncotarget 2017; PMID 28456791
18. Pastorino F et al Cancer Res 2003; PMID: 12517782
19. Di Paolo D et al Mol Ther 2011; PMID: 21829174
20. Di Paolo D et al Mol Ther 2011; PMID: 21487394
21. Loi M et al J Control Rel 2013; PMID: 23714122
22. Cossu I et al Biomaterials 2015; PMID: 26276694
23. Ponzoni M et al Small. 2018; PMID: 30294852
24. Pastorino et al Small 2019; PMID: 30706636
25. Pastorino F et al Curr Med Chem 2007; PMID: 18220743
26. Pastorino et al Clin Cancer Res. 2008; PMID: 19010847
27. Di Giannatale A et al Eur J Cancer 2014; PMID: 24021349



## BUDGET TOTALE PROGETTO

<b>Budget Totale proposto (Euro)</b>			
<b>Costi</b>	<b>BUDGET TOTALE (Euro)</b>	<b>Co-Finanziamento (Euro)</b>	<b>Costi richiesti alle Associazioni (Euro)</b>
Salario Personale di Ruolo	316.722	316.722	0
Contratti Ricercatori	150.000	0	150.000
Strumentazione (Leasing - Rent)	5000	0	5.000
Forniture	80.000	0	80.000
Costi per la modellistica animale	75.000	0	75.000
Subcontratti (mantenimento topi, NGS pazienti, imaging)	100.000	0	100.000
Costi per pazienti	0	0	0
Servizi IT e DataBase	0	0	0
Costi Pubblicazioni	9.000	0	9000
Convegni	9.000	0	9000
Overheads *	34.240	0	34.240
Costi coordinamento	3.000	3.000	0
<b>Totale</b>	<b>781.962</b>	<b>319.722</b>	<b>462.240</b>

\*Percentuale calcolata come valore medio tra tutte le Unità Operative (8% IGG, escluso costi Personale ruolo e coordinamento).

### **Co-Finanziamenti dei Gruppi partecipanti :**

#### **Salario del Personale di Ruolo:**

UO1: 3 m/a per MP per 3 anni 96.417 euro + 4 m/a per un ricercatore senior per 3 anni 90.600 euro: tot 187.017 euro

UO2: 1 m/a per CB per 3 anni 25.950 euro + 2m/a per un ricercatore senior 45.300 euro: tot. 71.250 euro

UO3: 1.5 m/a per AG per 3 anni 58.455 euro

**Costi coordinamento:** 3.000 euro