

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

O papel da imunoterapia no tratamento do cancro colo-rectal

Adriana Filipa de Sousa Soares

M

2020



Título: O papel da imunoterapia no tratamento do cancro colo-rectal

Autora: Adriana Filipa de Sousa Soares

Endereço de mail: adriana_soares111@hormail.com

Mestrado Integrado em Medicina

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

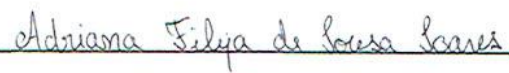
Orientador: Professor Doutor António Manuel Ferreira Araújo

Assistente Graduado Sénior e Diretor do Serviço de Oncologia Médica do Centro Hospitalar
Universitário do Porto

Professor Catedrático Convidado do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do
Porto

Porto, junho de 2020

Autora:



Adriana Filipa de Sousa Soares

Orientação:



António Manuel Ferreira Araújo

Porto, junho de 2020

DEDICATÓRIA

À minha família, que sempre acreditou em mim e me encorajou a seguir o meu sonho. Por toda a paciência, conselhos mas sobretudo amor e carinho. Palavras não conseguem descrever o quão grata estou por vos ter ao meu lado.

Aos meus amigos, que me acompanharam neste percurso, por todos os momentos bons e menos bons que passamos juntos, a vossa presença e apoio foi e é fundamental.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Doutor António Araújo, por ter aceite orientar este trabalho, pela disponibilidade, compreensão e conhecimento que transmitiu, desde a sugestão do tema até à finalização da dissertação.

Ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto, pela qualidade de ensino que me proporcionou e que irei ter a oportunidade de colocar em prática na minha vida profissional futura.

RESUMO

Introdução

O cancro colo-rectal é o terceiro cancro mais incidente e a segunda causa de morte mais comum por cancro no mundo. O tratamento depende do estadio, podendo ser realizada como 1ª linha cirurgia, radioterapia, quimioterapia ou terapia dirigida. Da necessidade de melhorar a eficácia do tratamento nesta neoplasia surge a imunoterapia, já usada noutros cancros e que consiste na estimulação do sistema imunológico e dos mecanismos de defesa do corpo no combate às células cancerígenas.

Objetivos

Compreender o papel da imunoterapia no cancro colo-rectal, a sua evolução, a integração desta terapia no tratamento atual e quais as abordagens principais que estão a ser estudadas para aprimorar a sua eficácia.

Metodologia

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados *Pubmed*. Não foram definidos limites temporais contudo foi dada preferência a artigos mais recentes.

Desenvolvimento

Os inibidores de *checkpoints* imunológicos são atualmente a abordagem mais estudada no cancro colo-rectal contudo estes ainda só se mostraram verdadeiramente eficazes num pequeno grupo de doentes. Outras abordagens têm sido estudadas de modo a aproveitar o sistema imunológico nomeadamente o uso de vírus oncolíticos, vacinas tumorais, inibidores da indoleamina 2,3-dioxigenase 1, terapia com anticorpos bi-específicos, agonistas OX40, transferência de células adotivas e agonistas de recetores *toll-like*.

Conclusão

O conhecimento aprimorado que tem surgido sobre o cancro colo-rectal aliado aos vários ensaios clínicos que estão a decorrer poderão no futuro fazer com que a imunoterapia se torne fundamental no tratamento desta doença.

Palavras-chave: imunoterapia, tratamento, cancro colo-rectal

ABSTRACT

Introduction

Colorectal cancer is the third most incident cancer and the second leading cause of death from cancer in the world. The treatment depends on the stage and surgery, radiotherapy, chemotherapy or directed therapy can be performed as 1st line of treatment. From the need to improve the effectiveness of treatment in this neoplasia arises the immunotherapy, already used in other cancers. This new therapy stimulates the immune system and the body's defense mechanisms to fight cancer cells.

Objectives

To understand the role of immunotherapy in colorectal cancer, its evolution, the integration of this therapy in the current treatment and what are the main approaches that are being studied to improve its effectiveness.

Methodology

A bibliographic search was performed in the Pubmed database. No time limits were defined, however preference was given to more recent articles.

Results

Immune checkpoint inhibitors are currently the most studied approach in colorectal cancer, however these have only yet been shown to be truly effective in a small group of patients. Other approaches have been studied in order to take advantage of the immune system, namely the use of oncolytic viruses, tumor vaccines, indoleamine 2,3-dioxygenase 1 inhibitors, bispecific antibody therapy, OX40 agonists, adoptive cell transfer and toll-like receptor agonists.

Conclusion

The improved knowledge that has emerged about colorectal cancer combined with the various clinical trials that are taking place may in the future make immunotherapy essential in the treatment of this disease.

Keywords: immunotherapy, treatment, colorectal cancer

LISTA DE ABREVIATURAS

5-FU - 5-fluorouracil
ACT - transferência de células adotivas
APC - células apresentadoras de antígenos
BCG - bacilo Calmette-Guerin
BRAF - homólogo B1 do oncogene do sarcoma viral murino v-raf
CAR-T - células T quiméricas do recetor de antígeno
CCR - cancro colo-rectal
CD - *cluster* de diferenciação
CEA - antígeno carcinoembrionário
CIK - células *killer* induzidas por citocinas
CpG - sequências de nucleótidos de citosina-guanina
CTLA-4 - linfócito T citotóxico associado à proteína 4
DNA - ácido desoxirribonucleico
EGFR - recetor do fator de crescimento epidérmico
EMA - *European Medicines Agency*
FDA - *US Food and Drug Administration*
GM-CSF - fator estimulador de colónias de granulócitos e macrófagos
IDO - indoleamina 2,3-dioxigenase 1
IFN- γ - interferão- γ
IgG1 - imunoglobulina G1
IL - interleucina
KRAS - homólogo viral do oncogene do sarcoma do rato de *Kirsten*
MGMT - O(6)-metilguanina-DNA metiltransferase
MHC - complexo major de histocompatibilidade
MLH1 - homólogo 1 de MutL
MMRd - mecanismos de reparação *mismatch* deficitários
MMRp - mecanismos de reparação *mismatch* proficientes
MSI-H - instabilidade microssatélite alta
MSI-L - instabilidade microssatélite baixa
MSS - estabilidade microssatélite
NK - *natural killer*
OX40 - superfamília de recetores do fator de necrose tumoral, membro 4
PD-1 - recetor 1 de morte programada
PD-L1/2 - ligandos do recetor de morte programada
TAA - antígenos associados a tumores
TCB - *T cell bispecific*
TCR - recetor de células T
TIL - linfócito infiltrante de tumor
TLR - recetores *toll-like*
TNF- α - fator de necrose tumoral- α
TP53 - proteína de tumor p53
Tregs - T reguladoras
VEGF - fator de crescimento endotelial vascular

ÍNDICE

Agradecimentos	i
Resumo	ii
Abstract	iii
Lista de abreviaturas	iv
Lista de tabelas	vi
Lista de imagens	vi
Introdução	1
Objetivos	3
Metodologia	4
Fisiopatologia do CCR	5
Microambiente do tumor	5
Inibidores de <i>checkpoints</i> imunológicos	5
Ensaio clínico inicial	6
Ensaio clínico em regime de monoterapia em doentes com CCR MSI-H/MMRd	7
Pembrolizumab	7
Nivolumab	8
Ensaio clínico com o uso combinado de inibidores em doentes CCR MSI-H/MMRd	8
Tratamentos atualmente aprovados	9
Ensaio clínico a decorrer	9
Monoterapia	9
Combinação com quimioterapia e terapia dirigida aprovada	10
Combinação com radioterapia	10
Terapia com vírus oncolíticos	10
Vacinas tumorais	11
Agonistas OX40	13
Terapia com anticorpos bi-específicos	13
Inibidores daIDO	14
Terapia com ACT	14
Agonistas de TLR	15
Conclusão	16
Apêndice	17
Referências bibliográficas	22

LISTA DE TABELAS

Tabela I – resumo da eficácia dos inibidores de *checkpoints* imunológicos nos ensaios clínicos em doentes com CCR MSI-H/MMRd

Tabela II – ensaios clínicos a decorrer com inibidores de *checkpoints* imunológicos em monoterapia, combinação com quimioterapia, terapia dirigida aprovada ou radioterapia

Tabela III – ensaios clínicos a decorrer com vacinas tumorais, inibidores da IDO, agonistas OX40, anticorpos bi-específicos, ACT e agonistas TLR

LISTA DE IMAGENS

Figura 1 – Inibição mediada por CTLA-4

Figura 2 – Inibição mediada por PD-1

INTRODUÇÃO

O CCR é o terceiro cancro mais comum apresentando, em 2018, uma incidência de cerca de 1.8 milhões de novos casos globalmente. No que diz respeito à mortalidade, foi a segunda causa mais comum de morte por cancro com cerca de 881 000 mortes estimadas nesse mesmo ano, representando, assim, 10% de todos os cancros diagnosticados anualmente e de mortes relacionadas com cancro¹. As taxas de incidência e mortalidade do CCR variam largamente em todo o mundo, com gradientes distintos nos diferentes países, contudo, com o progresso contínuo nos países em desenvolvimento prevê-se um aumento para 2.2 milhões de novos casos e para 1.1 milhão de mortes em 2030².

Atualmente, o tratamento padrão para o CCR no estadio I é a ressecção cirúrgica, no estadio II e se o tumor se localizar no cólon é realizada ressecção cirúrgica que pode ser acompanhada por quimioterapia adjuvante para os de alto risco, se o tumor se localizar no reto uma das abordagens mais comum é a ressecção cirúrgica que pode ser acompanhada normalmente por quimioterapia e radioterapia neoadjuvante também para os de alto risco e nalguns casos, após a cirurgia pode ser realizado quimioterapia adjuvante. No estadio III, no cólon é realizada ressecção cirúrgica e quimioterapia adjuvante, no reto a maioria dos doentes realiza quimioterapia, radioterapia e cirurgia, contudo a ordem destes tratamentos pode diferir dependendo de cada caso. No estadio IV o tratamento é muito variável, sendo os planos terapêuticos completamente individualizados. Pode ser realizada remoção cirúrgica do tumor primário e das lesões metastáticas, seguido por quimioterapia ou terapia dirigida. Os esquemas usados na quimioterapia variam contudo esquemas baseados no 5-FU tem sido o *gold standard* no tratamento desta doença^{3,4}.

O prognóstico dos doentes com esta doença é dependente do estadio do tumor aquando o diagnóstico⁵. Nas últimas décadas, a taxa de sobrevivência a 5 anos de doentes com CCR nos países desenvolvidos tem vindo a melhorar devido à deteção precoce por meio de rastreios e a progressos feitos a nível dos tratamentos, contudo cerca de 18% dos doentes ainda se apresentam com doença avançada na altura do diagnóstico^{2,6} sendo a taxa de sobrevivência no estadio IV de apenas 13%⁵. Assim, é possível observar as limitações que os tratamentos atuais apresentam e a necessidade de se encontrar novas formas de diminuir a mortalidade nesta doença.

Nos recentes anos, novas descobertas foram feitas na interação do cancro e imunologia nomeadamente na compreensão de como o cancro evade o sistema imunológico. O microambiente do tumor desempenha um papel importante pois é o local principal no qual as células tumorais e o sistema imunológico do hospedeiro interagem. Compreender as respostas imunológicas neste microambiente é fundamental para perceber a imunidade protetora do tumor e para desenvolver novas formas de tentar impedir a evasão imunológica. Paralelamente, foram desenvolvidas

terapêuticas destinadas a aproveitar o sistema imunológico no combate contra o cancro. Assim, a imunoterapia estimula o sistema imunológico e os mecanismos de defesa do corpo a combater as células cancerígenas⁷.

A evidência científica que demonstrou a eficácia da imunoterapia noutros cancros, nomeadamente no melanoma, levou à aplicação desta técnica, também no CCR. Os avanços no conhecimento sobre alterações genéticas, epigenéticas e bioquímicas associadas à evolução do CCR permitiram identificar mecanismos que poderão ser suscetíveis à imunoterapia^{8,9}. Assim, esta terapêutica poderá desempenhar um papel fulcral no tratamento do CCR.

OBJETIVOS

O principal objetivo deste trabalho consiste em revisar a literatura de forma a tentar compreender o papel da imunoterapia no cancro colo-rectal, a sua evolução, a integração desta terapia no tratamento atual e quais as abordagens principais que estão a ser estudadas para aprimorar a sua eficácia.

METODOLOGIA

Uma vez escolhido o tema foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados *Pubmed* com as palavras-chave *colorectal cancer, immunotherapy e treatment* de forma combinada assim como também foi consultada a revista *Journal of Clinical Oncology*. Não foram definidos limites temporais contudo foi dada preferência a artigos mais recentes. Foram passíveis de análise artigos redigidos em inglês ou português.

Foi dada maior relevância a artigos originais, no entanto, foram utilizadas revisões bibliográficas para a compreensão de mecanismos que estão na base da imunoterapia assim como as *guidelines* para o tratamento do cancro colo-rectal da *National Comprehensive Cancer Network* de modo a fornecer uma melhor visão sobre esta técnica. Informação sobre ensaios clínicos a decorrer foi consultada na página *Clinical Trials* da *U.S. National Library of Medicine*. Quando necessário foram também consultados e incluídos artigos citados nos artigos da pesquisa inicial.

FISIOPATOLOGIA DO CCR

O carcinoma colo-rectal desenvolve-se a partir de pólipos adenomatosos por acumulação progressiva de alterações genéticas e epigenéticas que inativam genes supressores tumorais e ativam oncogenes. Existem 3 vias principais mecanismos de lesão precursora que podem ocorrer separados ou em combinação: instabilidade cromossômica, instabilidade epigenética ou fenótipo de metilação CpG e instabilidade microssatélite. A via de instabilidade cromossômica geralmente desenvolve-se após eventos genômicos iniciados por uma mutação no gene supressor tumoral APC, seguidos pela ativação do oncogene KRAS ou perda de função de TP53. A maioria destes tumores apresenta uma carga de mutação baixa a moderada e são proficientes em termos de mecanismos de reparação *mismatch* do DNA e apresentam MSS ou apenas MSI-L. A via da instabilidade epigenética deve-se principalmente a hipermetilações de MLH1 e MGMT que são genes supressores tumorais estando associado a mutações BRAF e a MSI. A via da instabilidade microssatélite deve-se a mecanismos de reparação *mismatch* deficitários do DNA e está muitas vezes associada à via da instabilidade epigenética. Estes tumores apresentam maioritariamente MSI-H¹⁰.

Microambiente do tumor

Doentes com CCR com MSI-H/MMRd, que representam cerca de 15% de todos os doentes com CCR, apresentam uma carga de mutação elevada devido a mecanismos de reparação do DNA deficitários o que pode levar à formação de neoantígenos que podem ser reconhecidos pelo sistema imunológico desencadeando uma resposta com infiltração de células deste sistema no tumor⁹. Contudo, o tumor pode evadir a resposta imunológica nomeadamente a nível dos *checkpoints* imunológicos: CTLA-4 e PD-1. Portanto, o uso de inibidores de *checkpoints* imunológicos pode impedir a evasão das células tumorais ativando uma resposta antitumoral eficaz¹¹. Os doentes que apresentam CCR MSS/MMRp poderão beneficiar de outras estratégias ou combinações que serão abordadas mais à frente.

INIBIDORES DE CHECKPOINTS IMUNOLÓGICOS

Os *checkpoints* imunológicos CTLA-4 e PD-1 têm como função inibir os processos imunológicos mediados por linfócitos T. Isto é importante pois previnem a autoimunidade ajudando na manutenção do equilíbrio imunológico. De um modo geral, a ativação dos linfócitos T necessita de 2 estímulos: um que irá providenciar a especificidade antigénica e que ocorre na ligação do TCR com o MHC e outro que será um sinal co-estimulatório e que provém da ligação das moléculas B7-

1 (CD80) ou B7-2 (CD86) presente nas APC com a molécula CD28 nos linfócitos T. Sem estes 2 sinais os linfócitos T ficam anérgicos e não responsivos a antígenios¹¹.

CTLA-4 (CD152) é um antígeno expresso em linfócitos T efetores *naïve* e linfócitos Tregs e um homólogo da molécula CD28 com uma maior afinidade, ou seja, compete pela mesma ligação a B7-1 e B7-2 que se encontram expressas nas APC. Esta ligação é inibitória e como tal, pode impedir a ativação dos linfócitos T e a libertação da IL-2 (figura 1)^{11,12}. PD-1 faz parte da família de recetores B7/CD28 e é expresso principalmente em macrófagos, linfócitos T e B e células NK. Tem como função regular a atividade dos linfócitos T através da ligação aos seus ligandos PD-L1 e PD-L2. Esta ligação inibe a proliferação dos linfócitos T, IFN- γ , TNF- α e produção de IL-2. Quando um linfócito T se liga a PD-1 e TCR, o sinal de PD-1 impede a fosforilação dos principais intermediários de sinalização do TCR, reduzindo a ativação dos linfócitos T. PD-1 pode apresentar uma expressão exagerada em casos de inflamação crónica ou de cancro (figura 2)^{11,13}.

Os tumores podem usar estes *checkpoints* imunológicos como forma de evadir à resposta imunológica. Assim, o uso de inibidores de *checkpoints* imunológicos CTLA-4 e PD-1 ou do ligando PD-L1 poderá levar ao estímulo do sistema imunológico contra as células cancerígenas¹¹.

Ensaio clínico iniciais

Ensaio clínico iniciais com tremelimumab (anti-CTLA-4) e nivolumab (anti-PD-1) demonstraram-se pouco eficazes em doentes com CCR metastático. Num ensaio inicial de fase II para avaliar a segurança e eficácia do tremelimumab em doentes com CCR metastático refratário apenas 1 de 47 doentes elegíveis apresentou uma resposta parcial (redução de pelo menos 30% das lesões) com este tratamento. Neste doente foi observado uma regressão de duas metástases, uma na pelve e outra na glândula suprarrenal, tendo recebido 5 doses de tremelimumab, contudo foi observada progressão da doença ao 15º mês após o início do tratamento tendo sobrevivido cerca de 19,1 meses após a 1ª dose. Dos 45 doentes, 30 apresentaram efeitos adversos relacionados com o tratamento, sendo a maioria leve a moderada. Os mais comuns foram diarreia, náusea, vómitos e fadiga¹². Noutro ensaio clínico de fase I com nivolumab para avaliar a segurança, a tolerabilidade e a atividade antitumoral apenas 1 de 14 doentes com CCR metastático refratário respondeu ao tratamento apresentando uma resposta completa (desaparecimento das lesões alvo) que ainda se mantinha aos 21 meses. Este ensaio apresentou um perfil de segurança aceitável¹³. No seguimento deste doente após 3 anos do final deste tratamento não havia evidência de recorrência da doença¹⁴.

Ensaio clínico em regime de monoterapia em doentes com CCR MSI-H/MMRd

Pembrolizumab

Novos ensaios clínicos foram realizados com base na MSI-H/MMRd. Em 2015 foi publicado um estudo de fase II, denominado *KEYNOTE* 016 (NCT01876511), para avaliar a eficácia do pembrolizumab (anti-PD-1) às 20 semanas em 41 doentes com cancro metastático refratário. Foram definidos 3 coortes: coorte A que consistia em doentes com CCR MSI-H/MMRd, coorte B com doentes com CCR MSI-L/MMRp e coorte C com doentes com outros tipos de carcinomas MSI-H/MMRd e administrado pembrolizumab a cada 2 semanas. Dos 10 doentes no coorte A (CCR MSI-H/MMRd), 4 apresentaram uma resposta parcial ao tratamento sendo que 7 não tinham exibido progressão da doença ao fim de 20 semanas. No coorte com CCR MSI-L/MMRp, nenhum dos 18 doentes apresentou resposta ao tratamento. Deste estudo, foi possível observar que doentes com CCR com um número elevado de neoantígenos resultante de MMRd apresentavam uma melhor resposta a este tratamento. Dos efeitos adversos observados, os mais comuns foram *rash/prurido*, dor abdominal, diarreia, rinite alérgica, fadiga e artralguas. Quadros mais graves incluíram anemia e linfocitopenia em 20% dos doentes¹⁵. Em 2017 foi publicado uma continuação deste ensaio em 86 doentes com diferentes tipos de cancro MSI-H/MMRd inclusive 11 doentes com CCR. Todos os doentes já tinham realizado outros tratamentos antes da inscrição e apresentavam evidência de doença progressiva. Foi administrado novamente pembrolizumab tendo sido observado uma taxa de resposta global de 52% nos doentes com CCR sendo que 12% apresentaram uma resposta completa ao tratamento. Aos 2 anos, cerca de 59% dos doentes não apresentavam progressão da doença e a sobrevivência global era de 72%. Efeitos adversos mais comuns incluíram *rash/prurido*, fadiga, alterações tiroideias, artralguas e diarreia. Quadros mais graves incluíram diarreia/colite em 6% dos doentes assim como pancreatite também em 6% dos doentes⁸.

Recentemente um novo estudo com pembrolizumab foi publicado, denominado *KEYNOTE* 164 (NCT02460198). Neste ensaio de fase II não randomizado foi avaliada a eficácia deste fármaco em 124 doentes com CCR MSI-H/MMRd localmente avançado ou metastático refratário a tratamento prévio. Foram definidos dois coortes: coorte A com 61 doentes que já tinham recebido pelo menos 2 terapias prévias (fluoropirimidina, oxaliplatina e irinotecano) e coorte B com 63 doentes que já tinham recebido pelo menos 1 terapia prévia (fluoropirimidina, oxaliplatina, irinotecano ou anti-VEGF/EGFR) e administrado pembrolizumab a cada 3 semanas até se verificar progressão da doença, morte, toxicidade, desistência ou conclusão do estudo. No Coorte A a taxa de resposta global foi de 28% e ao fim de 12 meses 34% não apresentaram progressão da doença, a sobrevivência global era de 72% e a mediana de resposta ao tratamento foi de 4,3 meses. No coorte B a taxa de resposta global foi de 32% e ao fim de 12 meses 41% não apresentaram progressão da doença, a sobrevivência global era de 76% e a mediana de resposta ao tratamento

foi de 3,9 meses. Efeitos adversos mais comuns incluíram artralgia, náuseas, diarreia, astenia e prurido. Quadros mais graves incluíram fadiga em 3% e pancreatite em 3% também¹⁶.

Nivolumab

Em 2017 foi publicado outro ensaio clínico, denominado *CheckMate* 142 (NCT02060188), para verificar novamente a eficácia do nivolumab desta vez em doentes com CCR MSI-H/MMRd metastático. Neste ensaio de fase II não randomizado foram inscritos 74 doentes com CCR MSI-H/MMRd metastático progressivo e refratário a pelo menos um tratamento anterior. Foi administrado nivolumab a cada 2 semanas até se verificar progressão da doença, morte, toxicidade, desistência ou conclusão do estudo. Foi observado que 69% dos doentes não apresentaram progressão da doença ao fim de 3 meses. Ao fim de 12 meses a taxa de resposta global foi de 31%, 50,4% não apresentaram progressão da doença e a sobrevivência global era de 73%. A mediana de resposta ao tratamento foi de 2,8 meses, contudo nenhum doente apresentou uma resposta completa. Os efeitos adversos mais comuns foram fadiga, diarreia, prurido e *rash*. Quadros mais graves incluíram aumento dos níveis da lípase em 8,1% e amílase em 2,7%¹⁷.

Ensaio clínico com o uso combinado de inibidores em doentes com CCR MSI-H/MMRd

No ensaio clínico *CheckMate* 142 foi também avaliada a eficácia da combinação do nivolumab e do ipilimumab (anti-CTLA-4) em 119 doentes com CCR MSI-H/MMRd metastático refratário, sendo que 76% já tinham realizado pelo menos 2 terapias prévias. Foi administrado nivolumab com uma dose menor de ipilimumab a cada 3 semanas, seguido de nivolumab a cada 2 semanas para manutenção. Foi observado uma taxa de resposta global de 55% aos 13,4 meses com 3% dos doentes a apresentar uma resposta completa. Ao fim de 12 meses 71% não apresentaram progressão da doença e a sobrevivência global era de 85%. Os efeitos adversos mais comuns foram diarreia, prurido e fadiga. Quadros mais graves incluíram aumento da AST e ALT em 11% e aumento dos níveis da lípase em 4%⁹.

Com base nestes resultados, o ensaio clínico *CheckMate* 142 adicionou mais um coorte ao estudo com 45 doentes com CCR MSI-H/MMRd metastático e sem tratamento metastático prévio. Foi administrado nivolumab a cada 2 semanas e uma dose menor de ipilimumab a cada 6 semanas até progressão da doença como tratamento de 1ª linha. Foi observado uma taxa de resposta global de 60% aos 13,8 meses com 7% de respostas completas e ao fim de 12 meses 77% não apresentaram progressão da doença e a sobrevivência era de 83%. Os efeitos adversos mais comuns foram prurido, hipotireoidismo, astenia e artralgias¹⁸.

Tratamentos atualmente aprovados

Com base nos resultados obtidos nestes ensaios clínicos, que se encontram resumidos na tabela I, pembrolizumab e nivolumab (com ou sem ipilimumab) estão atualmente aprovados pela FDA para o tratamento de doentes (>12 anos) com CCR MSI-H/MMRd metastático progressivo e refratário a fluoropirimidina, oxaliplatina e irinotecano^{19,20}. Na Europa, ainda nenhum tratamento com inibidores de *checkpoints* imunológicos foi aprovado pela EMA para o CCR²¹.

Ensaio clínico a decorrer

Nos últimos anos tem havido um progresso considerável na imunoterapia com os inibidores de *checkpoints* imunológicos para o CCR MSI-H/MMRd metastático contudo, ainda persistem desafios para encontrar a linha ideal de terapia com estes agentes assim como encontrar novas combinações para melhorar a sua atividade. O uso único de inibidores de *checkpoints* imunológicos em doentes com CCR MSS/MMRp ainda não se demonstrou eficaz¹⁵. Outras estratégias estão a ser definidas de forma a tentar usar a imunoterapia no combate a este tipo de CCR.

Monoterapia

O KEYNOTE 177 (NCT02563002) é um ensaio clínico randomizado de fase III para avaliar a eficácia do pembrolizumab como tratamento de 1ª linha em doentes com CCR MSI-H/MMRd em estadio IV. Dois grupos serão formados, um que irá realizar pembrolizumab a cada 3 semanas durante pelo menos 2 anos e outro grupo que irá realizar quimioterapia. O objetivo é avaliar a taxa de resposta global, a sobrevivência sem progressão de doença e a sobrevivência global e comparar estes resultados com os resultados de doentes que recebem quimioterapia. O SAMCO (NCT03186326) é outro ensaio clínico randomizado de fase II cujo principal objetivo é avaliar a sobrevivência sem progressão de doença como tratamento de 2ª linha em doentes com CCR MSI-H/MMRd metastático e comparar estes resultados com os resultados de doentes que recebem quimioterapia²².

É importante referir que ainda não existe muita informação sobre os efeitos dos inibidores de *checkpoints* imunológicos em doentes com cancro e doenças autoimunes uma vez que estes são normalmente excluídos dos ensaios clínicos pois a imunoterapia pode exacerbar a condição autoimune de base. Assim, atualmente está a decorrer um estudo numa população especial, denominado NCT03816345, para avaliar os efeitos adversos do nivolumab em doentes com cancro MSI-H/MMRd sólidos e com doenças autoimunes nomeadamente dermatomiosite/esclerodermia, artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistémico, doença inflamatória intestinal, entre outros²².

Combinação com quimioterapia e terapia dirigida aprovada

Ensaio clínico com inibidores PD-L1 também estão a decorrer assim como o uso combinado de imunoterapia, quimioterapia e terapia dirigida atualmente aprovada para o tratamento do CCR. A morte celular induzida pela quimioterapia pode levar a uma resposta imunológica contra as células tumorais²³. Num ensaio clínico de fase II foi avaliada se a combinação de quimioterapia e pembrolizumab poderia aumentar a morte celular imunogénica e melhorar os resultados em doentes com CCR irressecável independentemente de serem MSS/MMRp e MSI-H/MMRd como tratamento de 1ª linha. Foi verificado uma taxa de resposta global de 53% e a mediana de progressão de sobrevivência sem a doença foi de 16,9 meses em doentes com MSS/MMRp²⁴. Combinações com agentes que inibem o VEGF também estão a ser realizadas em ensaios clínicos pois este fator promove o crescimento do tumor, a angiogénese e pode impedir a infiltração dos linfócitos T²⁵. O NCT02997228 é um ensaio randomizado de fase III que irá avaliar o uso de atezolizumab (anti-PD-L1) em regime de monoterapia vs. uso da combinação de quimioterapia, bevacizumab (anti-VEGF) com ou sem atezolizumab como tratamento de 1ª linha em doentes com CCR MSI-H/MMRd metastático²². Ensaio clínico em combinação com o cetuximab, um anticorpo monoclonal que se liga ao EGFR também estão a decorrer²². Outros ensaios clínicos estão descritos na tabela II.

Combinação com radioterapia

A radioterapia num local pode induzir a libertação de antígenos tumorais podendo aumentar a resposta imunológica contra o tumor. Isto também poderá levar à redução de tumores não irradiados concomitantemente com a redução de tumores que estão a receber radioterapia²⁶. Num ensaio clínico não randomizado de fase II foi avaliada a eficácia da combinação de pembrolizumab com radioterapia ou ablação em 22 doentes com CCR MSS/MMRp metastático e refratário. Contudo só se verificou uma taxa de resposta global de 4,5% (1 doente) na combinação do pembrolizumab com radioterapia e nenhuma resposta na combinação do pembrolizumab com ablação²⁷. Outros ensaios estão a ser realizados para avaliar a eficácia da combinação de radioterapia/ablação com diferentes inibidores (tabela II).

TERAPIA COM VÍRUS ONCOLÍTICOS

Os vírus oncolíticos são vírus que se replicam seletivamente e danificam as células cancerígenas sem, no entanto, danificar o tecido normal do doente. Num ensaio clínico de fase I/II foi avaliada a segurança e os efeitos antitumorais de várias doses de NV1020, um vírus herpes simplex oncolítico geneticamente modificado, em doentes com CCR refratário e com metástases

hepáticas. Os doentes receberam 4 doses de NV1020 a cada semana seguido de 2 ou mais ciclos de quimioterapia. Cerca de 68% dos doentes responderam ao tratamento, com 1 doente a apresentar uma resposta parcial que durou 6 meses. A sobrevivência global passado 1 ano era de 47,2%. Foi observado um perfil de segurança favorável sem quadros clínicos graves²⁸. Noutro ensaio clínico de fase Ib foi administrado Pexa-Vec (vaccinia vírus projetado para expressar GM-CSF e deleção do gene da timidina cinase que tem como função limitar a replicação de vírus) de 2 em 2 semanas em doentes com CCR metastático e refratário. Este tratamento apresentou um perfil de segurança aceitável sem efeitos adversos significativos durante o período do estudo e em 67% dos doentes observou-se doença estável²⁹. Noutro ensaio clínico, de fase I/II, que ainda está a decorrer, foi avaliada a segurança da combinação da Pexa-Vec com tremelimumab e durvalumab (anti-PD-L1) vs. Pexa-Vec e durvalumab em doentes com CCR metastático tendo sido observado também um perfil de segurança favorável sem efeitos adversos graves confirmados³⁰. Apesar de bem tolerada e de mostrar certa atividade antitumoral, evidência da eficácia com vírus oncolíticos ainda é limitada pelo que serão necessários mais estudos até que seja possível retirar conclusões mais concretas.

VACINAS TUMORAIS

As vacinas tumorais ativam a resposta imunológica do hospedeiro contra o cancro, isto é, podem aumentar a capacidade dos TILs ou induzir a sua atividade quando esta estiver ausente podendo ser útil por exemplo nos cancros não imunogénicos como os que apresentam MSS/MMRp³¹.

As vacinas de células dendríticas são autólogas e podem ser obtidas através do isolamento de células dendríticas do hospedeiro. Estas células têm a função de processar e apresentar antigénios e estimular uma resposta imunológica por parte dos linfócitos T citotóxicos. A síntese destas vacinas é feita com células precursoras de células dendríticas do hospedeiro, ativação destas através da infusão com TAA *in vitro* e administração posterior no doente de modo a estimular uma resposta específica contra o tumor³¹. Num ensaio clínico de fase II foi avaliada a eficácia desta vacina em doentes com CCR e cancro gástrico de todos os estadios após ressecção cirúrgica, sem evidência de metástases ou recorrência e que tenham completado quimioterapia ou radioterapia há pelo menos 1 mês. A esta vacina foi adicionado também CIK. As CIK apresentam um fenótipo misto entre linfócitos T e células NK, são produzidas *ex vivo* através da incubação de linfócitos com agonistas CD3, IL-2, IL-1-β e IFN-γ e apresentam uma atividade lítica aumentada para células tumorais. Foram definidos dois grupos, um que recebeu a vacina e outro de controlo, com 27 doentes em cada (13 doentes com CCR em cada). Foi observado que nos doentes com CCR a

sobrevivência sem doença e a sobrevivência global aos 5 anos foi de 66% e 75% respetivamente no grupo que recebeu a vacina vs. 8% e 15% no grupo de controlo. Este ensaio também apresentou um perfil de segurança favorável. Neste ensaio verificou-se que esta combinação melhora significativamente a sobrevivência contudo mais estudos são necessários para averiguar melhor a sua eficácia³². Noutro ensaio clínico de fase II randomizado foi avaliada a eficácia destas vacinas em doentes com CCR metastático e refratário a pelo menos 2 tratamentos anteriores. Foi comparado o uso de vacinas com células dendríticas em associação com cuidados paliativos vs. só cuidados paliativos em 52 doentes (28 vs. 24). Os doentes receberam 5 doses nos dias 0, 10, 20, 40 e 120 e a cada 6 meses a partir de então até se verificar progressão da doença. Foi observado que a mediana de progressão livre de doença foi de 2,7 meses e a mediana de sobrevivência global foi de 6,2 meses no grupo que recebeu a vacina vs. 2,3 meses e 4,7 meses respetivamente no grupo de controlo. Não foram observados efeitos adversos com este tratamento. A sobrevivência global ao fim de 2 anos foi de 7% vs. 4%. Foi possível também observar uma resposta imunológica, contudo este tratamento não demonstrou benefícios na sobrevivência global quando comparado com o grupo de controlo³³. Outros ensaios clínicos estão a ser desenvolvidos com estas vacinas, nomeadamente em doentes com CCR em estadio I e II e em doentes com CCR MSS/MMRp metastático refratário e que se encontram descritos na tabela III²².

As vacinas tumorais autólogas consistem no isolamento de células tumorais do hospedeiro e posterior alteração tornando-as imunogénicas sendo depois administradas no doente de modo a que o sistema imunológico desencadeie uma resposta³¹. Um dos primeiros ensaios clínicos com este tipo de vacina, de fase III randomizado, consistiu na administração de células tumorais autólogas irradiadas e combinadas com BCG após cirurgia curativa em doentes com cancro do colon ressecável em estadio II e III e comparar os resultados com um grupo de controlo que não recebeu este tratamento adjuvante. Foram realizadas 4 tomas desta vacina, sendo a 1ª feita 4 semanas após a cirurgia, a 2ª e a 3ª com 3 semanas de espaço e a 4ª aos 6 meses. Foram observadas 25 recorrências no grupo que recebeu vacinas e 40 no grupo de controlo. Quando avaliado por estadio, este tratamento revelou-se benéfico nos doentes com cancro em estadio II, diminuindo o risco de recorrência em 61%. Em doentes em estadio III este tratamento não demonstrou benefícios. Este ensaio também apresentou um perfil de segurança favorável com efeitos adversos mínimos³⁴. Como tal, está a ser desenvolvido um estudo denominado *ACTIVE* (NCT02448173) dirigido a doentes com cancro do colon em estadio II ressecável e com o objetivo de avaliar a eficácia desta vacina como tratamento adjuvante²².

As vacinas peptídicas são baseadas na inoculação de doentes com epítomos imunogénicos derivados de TAAs de modo a induzir uma resposta antitumoral específica contra estes³¹. Um ensaio clínico de fase II não randomizado avaliou a combinação de 5 peptídeos, 3 de antígenos tumorais

e 2 de recetores VEGF, numa única vacina juntamente com quimioterapia como tratamento de 1ª linha em doentes com CCR metastático vs só quimioterapia. Esta vacina foi administrada 1 vez por semana durante 13 semanas e posteriormente 1 vez a cada 2 semanas até progressão da doença. No grupo que recebeu a vacina a taxa de resposta global, a mediana até progressão de doença e a sobrevivência global foram de 62%, 7,2 meses e 20,7 meses vs. 60,9%, 8,7 meses e 24 meses no grupo de controlo. Foi então possível observar que este tratamento não obteve os resultados esperados não apresentado qualquer benefício³⁵.

As vacinas de vetores virais usam um vírus atenuado transfectado com genes que codificam TAAs³¹. Um ensaio clínico randomizado de fase II avaliou a eficácia da combinação entre a ALVAC-CEA/B7-1, um *canarypox* vírus que expressa CEA (que se encontra por vezes com expressão exagerada no CCR) e B7-1, com quimioterapia em doentes com CCR metastático. Foram formados 3 grupos, um que recebeu a vacina antes e concomitantemente com a quimioterapia, outro que recebeu esta vacina com toxoide tetânico antes e concomitantemente com a quimioterapia e um terceiro que recebeu a vacina após a quimioterapia. Contudo, não foram observadas diferenças imunológicas nem clínicas entre os diferentes esquemas nem benefícios com este tratamento vs. só quimioterapia³⁶.

Apesar de vários tipos de vacinas terem sido testadas ainda nenhuma apresentou resultados promissores no CCR para ser aprovada.

AGONISTAS OX40

Outras abordagens têm sido estudadas nomeadamente com a superfamília de recetores do fator de necrose tumoral, mais concretamente com a molécula OX40, também denominada CD134, e com o seu ligando OX40L. OX40 é expresso nos linfócitos T atuando como uma molécula co-estimulatória secundária e OX40L está presente nas APC. A sua interação induz a expansão e proliferação de linfócitos T para melhorar a resposta imunológica ao antígeno específico. Um estudo analisou a expressão do gene OX40 em 50 CRC recém-excisados e verificou que a sua infiltração está associada ao aumento da sobrevivência global semelhante ao CCR em estadio I³⁷. Como tal, estão a decorrer ensaios clínicos com agonistas OX40 em cancro sólidos metastáticos, incluindo CCR, para testar a sua segurança e eficácia (tabela III)²².

TERAPIA COM ANTICORPOS BI-ESPECÍFICOS

Os anticorpos bi-específicos são agentes que têm a capacidade de se ligar a dois alvos separados. CEA-TCB é um anticorpo bi-específico que liga o CEA das células cancerígenas com o CD3 dos linfócitos T induzindo uma resposta imunológica com a infiltração no tumor dos linfócitos

T e inflamação deste. Isto pode ser importante, principalmente em tumores MSS/MMRp. Foram realizados dois ensaios clínicos de fase Ia e Ib para avaliar a segurança e eficácia deste anticorpo em doentes com CCR MSS/MMRp metastático. Num grupo foi administrado somente CEA-TCB e noutro uma combinação de CEA-TCB e atezolizumab. Foi verificada evidência de atividade antitumoral nos doentes que receberam só CEA-TCB, sendo que 45% apresentaram resposta parcial (6%) ou doença estável (39%). Nos doentes que receberam a combinação de CEA-TCB e atezolizumab 82% apresentaram resposta parcial (18%) ou doença estável (64%)³⁸.

INIBIDORES DAIDO

AIDO é uma enzima que se apresenta com expressão exagerada em certas neoplasias. A sua função é catalisar o primeiro passo no catabolismo do triptofano. A diminuição deste torna as células T efetoras inativas e as células dendríticas imunossupressoras levando a uma supressão da resposta imunológica no microambiente do tumor³⁹. Inibir aIDO pode desencadear uma resposta imunológica eficaz contra o tumor contudo ainda não há muita informação sobre a sua utilidade no CCR. Atualmente está a decorrer um ensaio que irá avaliar a segurança e eficácia de um inibidor daIDO em combinação com pembrolizumab e azacitidina em doentes com CCR MSS metastático e refratário a quimioterapia prévia (tabela III)²².

TERAPIA COM ACT

A terapia com ACT consiste no isolamento, expansão *ex vivo* e administração de TILs no doente. Num ensaio clínico publicado em 2015 de fase I/II foi avaliada a viabilidade, toxicidade e efeito clínico da ACT adjuvante baseada em linfócitos T do gânglio sentinela em doentes com CCR no pós-operatório. Foram incluídos 25 doentes em estadio IV com metástases síncronas não ressecáveis que foram submetidos a cirurgia paliativa tendo sido identificados os linfócitos T que foram posteriormente expandidos *ex vivo* e administrados nos doentes. Dos 25 doentes, 9 receberam este tratamento juntamente com quimioterapia *standard* enquanto 16 receberam só quimioterapia. Aos 24 meses, a sobrevivência global no grupo da imunoterapia era de 55,6% e a mediana da sobrevivência global de 28 meses vs. 17,5% e 14 meses no grupo de controlo. Não foi observada toxicidade relacionada ao tratamento⁴⁰.

Noutro ensaio clínico não randomizado de fase I foi avaliada a segurança e a eficácia do uso de células NK em combinação com anticorpos IgG1 para o tratamento de 9 doentes com CCR (n=6) ou cancro gástrico (n=3) em estadio IV, avançado ou metastático irressecável e refratário. As células NK desempenham um papel importante no aprimoramento das respostas imunológicas adaptativas. Nos doentes com CCR foi realizada quimioterapia, cetuximab e células NK expandidas.

Foi observado uma boa tolerância a esta combinação e dos 6 doentes avaliados e elegíveis, 4 (66,7%) demonstraram doença estável e a mediana até progressão de doença foi de 267,5 dias tendo-se verificado indução de uma resposta imunológica⁴¹.

Outra abordagem tem sido o uso de CAR-T que são células modificadas geneticamente e que expressam o CAR. Estas CAR-T reconhecem as células tumorais diretamente sem o processo de apresentação de antígenos e restrição do MHC. Foi realizado um ensaio clínico de fase I para avaliar a eficácia e segurança do uso de CAR-T em 10 doentes com CCR com CEA positivo, refratário e com metástases hepáticas e pulmonares. Foi observado que 7 dos doentes apresentaram doença estável sendo que 2 permaneceram assim durante 30 semanas e outros 2 apresentaram uma resposta parcial. Uma diminuição do nível sérico de CEA também foi observada em todos os doentes assim como uma boa tolerância a este tratamento⁴². Atualmente está a decorrer um ensaio de fase I para avaliar a segurança do uso combinado de CAR-T com quimioterapia em doentes com CCR metastático e que se encontra descrito na tabela III²².

AGONISTAS DE TLR

O uso de agonistas de TLR tem como objetivo estimular a imunidade inata através da ativação de células NK, monócitos e macrófagos e indução de citocinas. Foi realizado um ensaio randomizado de fase II em que foi avaliado o agonista TLR9 denominado MGN1703 como tratamento de manutenção em doentes com CCR metastático e doença estável após quimioterapia. Foram selecionados 59 doentes, 43 receberam o MGN1703 e 16 serviram como grupo de controlo. Foi observado que a mediana de sobrevivência sem progressão da doença foi de 2,8 meses com o MGN1703 vs. 2,6 meses no grupo de controlo. A terapia com o MGN1703 também foi bem tolerada⁴³. Outros ensaios com o MGN1703 estão a decorrer como é o caso do IMPALA, um estudo randomizado de fase III que tem como principal objetivo avaliar a sobrevivência global em doentes com CCR metastático e doença estável após quimioterapia e que recebam este tratamento como manutenção (tabela III)²².

CONCLUSÃO

Vários avanços têm sido feitos ao nível do tratamento do CCR contudo este ainda se mantém uma importante causa de morbidade e mortalidade no mundo. A imunoterapia tem vindo a revolucionar o tratamento de vários tipos de cancro. Este tipo de tratamento baseia-se no uso de agentes que estimulam a ativação do sistema imunológico de modo a que este ataque as células cancerígenas.

Atualmente a abordagem que se tem mostrado mais eficaz no CCR é o uso de inibidores de *checkpoints* imunológicos cujos ensaios clínicos demonstraram aumento da sobrevivência livre de doença contudo o seu papel ainda é limitado. O único tratamento aprovado encontra-se restrito a um número reduzido de doentes que apresentem CCR MSI-H/MMRd metastático progressivo e refratário ao tratamento *standard*. A sua eficácia neste grupo deve-se principalmente ao facto deste tipo de cancro apresentar uma carga de mutação elevada devido a mecanismos de reparação deficitários do DNA o que induz a formação de neoantígenos que são reconhecidos pelo sistema imunológico desencadeando uma resposta com infiltração de células deste sistema no tumor.

Novas abordagens têm surgido para melhorar a eficácia da imunoterapia tanto no CCR MSI-H/MMRd como no CCR MSS/MMRp. Combinações de inibidores de *checkpoints* imunológicos com quimioterapia, terapia dirigida ou radioterapia podem estimular uma resposta contra o tumor. Outras modalidades como terapia com vírus oncolíticos, vacinas tumorais, agonistas OX40, inibidores da indoleamina 2,3-dioxigenase 1, terapia com anticorpos bi-específicos ou com transferência de células adotivas e agonistas de recetores *toll-like* são abordagens que também estão a ser estudadas e que podem vir a desempenhar um papel importante.

O conhecimento aprimorado que tem surgido sobre o CCR aliado aos vários ensaios clínicos que estão a decorrer poderão no futuro fazer com que a imunoterapia se torne fundamental no tratamento desta doença.

APÊNDICE

Tabela I – resumo da eficácia dos inibidores de *checkpoints* imunológicos nos ensaios clínicos em doentes com CCR MSI-H/MMRd

Nome do ensaio clínico	Fármaco	Mecanismo de ação	Taxa de resposta global	Sobrevivência sem progressão da doença	Sobrevivência global
KEYNOTE 016 NCT01876511 <i>Update 2017</i>	Pembrolizumab	Anti-PD-1	52%	59% ^a	72% ^a
KEYNOTE-164 NCT02460198 Coorte A	Pembrolizumab	Anti-PD-1	28%	34% ^b	72% ^b
KEYNOTE-164 NCT02460198 Coorte B	Pembrolizumab	Anti-PD-1	32%	41% ^b	76% ^b
CheckMate 142 NCT02060188 Coorte 1	Nivolumab	Anti-PD-1	31%	50,4% ^b	73% ^b
CheckMate 142 NCT02060188 Coorte 2	Nivolumab + Ipilimumab ^c	Anti-PD-1 Anti-CTLA-4	55%	71% ^b	85% ^b
CheckMate 142 NCT02060188 Coorte 3	Nivolumab + Ipilimumab ^d	Anti-PD-1 Anti-CTLA-4	60%	77% ^b	83% ^b

a – ao fim de 24 meses

b – ao fim de 12 meses

c – nivolumab e ipilimumab a cada 3 semanas, nivolumab a cada 2 semanas para manutenção

d – nivolumab a cada 2 semanas e ipilimumab a cada 6 semanas

Tabela II – ensaios clínicos a decorrer com inibidores de *checkpoints* imunológicos em monoterapia, combinação com quimioterapia, terapia dirigida aprovada ou radioterapia

Nome do ensaio clínico	Esquema	Mecanismo de ação	População em estudo	Principal objetivo	Fase do estudo
KEYNOTE 177 NCT02563002	Pembrolizumab vs. Quimioterapia (1ª linha)	Anti-PD-1	CCR MSI-H/MMRd estadio IV	Avaliar sobrevivência sem progressão de doença e sobrevivência global	Fase III
NCT02997228	Atezolizumab vs. Quimioterapia + bevacizumab ± atezolizumab (1ª linha)	Anti-PD-L1	CCR MSI-H/MMRd metastático	Avaliar sobrevivência sem progressão de doença	Fase III
CheckMate 9X8 NCT03414983	Nivolumab + Quimioterapia + bevacizumab (1ª linha)	Anti-PD-1	CCR metastático	Avaliar sobrevivência sem progressão de doença	Fase II/III
CheckMate 8WH NCT04008030	Nivolumab vs. Nivolumab + Ipilimumab vs. Quimioterapia (2ª linha)	Anti-PD-1 Anti-CTLA-4	CCR MSI-H/MMRd metastático	Avaliar sobrevivência sem progressão de doença	Fase III
SAMCO NCT03186326	Avelumab vs. Quimioterapia ± terapia dirigida (2ª linha)	Anti-PD-L1	CCR MSI-H/MMRd metastático	Avaliar sobrevivência sem progressão de doença	Fase II
NCT02873195	Capecitabine + bevacizumab ± atezolizumab (2ª linha)	Anti-PD-L1	CCR metastático	Avaliar sobrevivência sem progressão de doença	Fase II
ATOMIC NCT02912559	Atezolizumab + Quimioterapia vs. Quimioterapia (Adjuvante)	Anti-PD-L1	CCR MSI-H/MMRd estadio III ressecável	Avaliar sobrevivência sem doença	Fase III
NCT02713373	Pembrolizumab + cetuximab (2ª linha)	Anti-PD-1	CCR metastático	Avaliar taxa de resposta global, sobrevivência sem progressão de doença e efeitos adversos	Fase I/II
NCT02437071	Pembrolizumab + radioterapia ou ablação	Anti-PD-1	CCR metastático	Avaliar taxa de resposta global	Fase II
NCT03122509	Durvalumab + tremelimumab + radioterapia ou ablação	Anti-PD-L1 Anti-CTLA-4	CCR metastático	Avaliar taxa de resposta global	Fase II
NCT03104439	Nivolumab + ipilimumab + radioterapia	Anti-PD-L1 Anti-CTLA-4	CCR MSS/MMRp e MSI-H/MMRd	Avaliar controlo da doença	Fase II

Tabela III – ensaios clínicos a decorrer com vacinas tumorais, inibidores daIDO, agonistas OX40, anticorpos bi-específicos, ACT e agonistas TRL

Nome do ensaio clínico	Esquema	Mecanismo de ação	População em estudo	Principal objetivo	Fase do estudo
NCT03730948	Cirurgia + mDC3	Vacina de células dendríticas	CCR estadio I e II	Avaliar segurança	Fase I
NCT03152565	Avelumab + vacina	Anti-PD-L1 Vacina de células dendríticas	CCR MSS/MMRp metastático refratário	Avaliar segurança e sobrevivência sem progressão de doença	Fase I/II
ACTIVE NCT02448173	Cirurgia + OncoVAX® vs. Cirurgia	Vacina tumoral autóloga	CCR estadio II	Avaliar sobrevivência sem doença	Fase III
NCT03182894	Epacadostat + Pembrolizumab + Azacitidine	Anti-IDO Anti-PD-1	CCR MSS/MMRp metastático	Avaliar segurança e taxa de resposta global	Fase I/II
NCT02559024	MEDI6469	OX40	Metástases hepáticas de CCR	Avaliar segurança	Fase I
NCT02410512	MOXR0916 + atezolizumab	OX40 Anti-PD-L1	Tumores sólidos metastáticos	Avaliar segurança	Fase Ib
NCT03241173	INCAGN01949 + Nivolumab vs. INCAGN01949 + Ipilimumab vs. INCAGN01949 + Nivolumab + Ipilimumab	OX40 Anti-PD-1 Anti-CTLA-4	Tumores sólidos metastáticos	Avaliar segurança e taxa de resposta global	Fase I/II
NCT02650713	RO6958688 + Atezolizumab	CEA-TCB Anti-PD-L1	Tumores sólidos metastáticos	Avaliar segurança	Fase I
NCT03692429	CYAD-101 + quimioterapia	CAR-T	CCR metastático	Avaliar segurança	Fase I
IMPALA NCT02077868	MGN1703 após quimioterapia	TRL9	CCR metastático	Avaliar sobrevivência e taxa de resposta global	Fase III

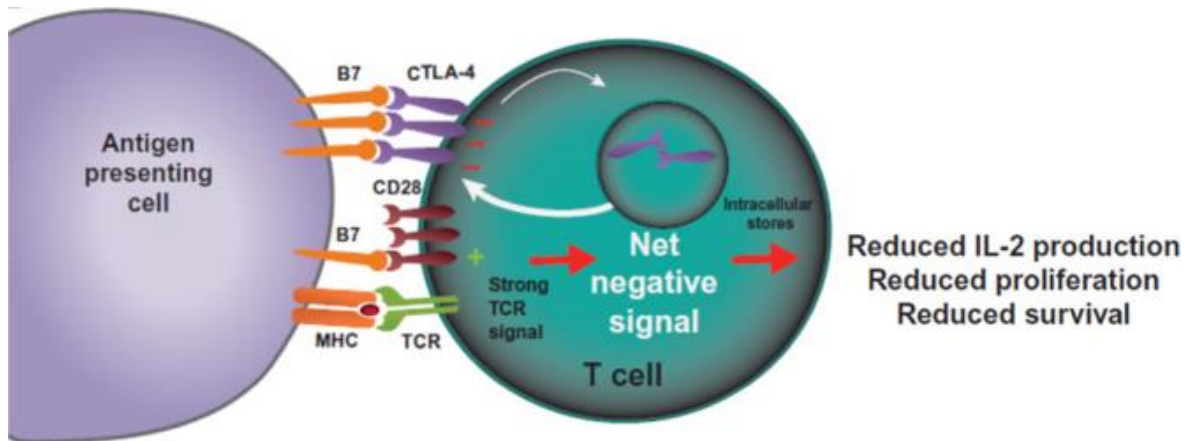


Figura 1 – Inibição mediada por CTLA-4. CTLA-4 é um antígeno expresso em linfócitos T efetores *naïve* e linfócitos Tregs e um homólogo da molécula CD28 com uma maior afinidade, competindo pela mesma ligação a B7-1 e B7-2 que se encontram expressas nas APC. Esta ligação é inibitória e como tal, pode impedir a ativação dos linfócitos T e a libertação da IL- 2. Adaptado de: Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. *Am J Clin Oncol.* 2016;39(1):98-106.

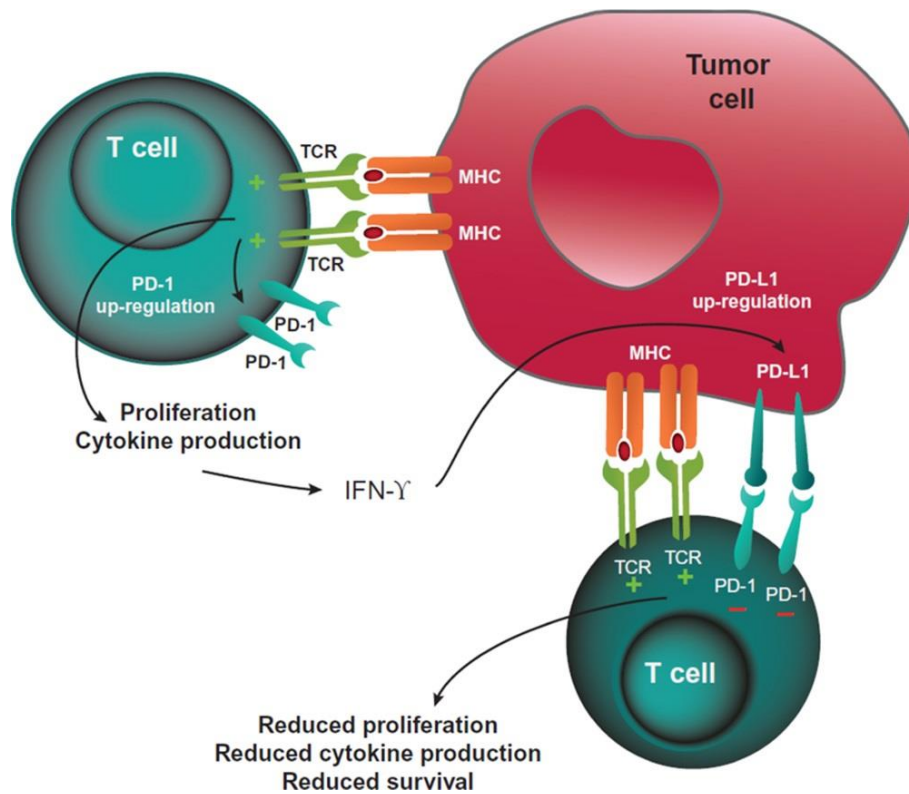


Figura 2 – Inibição mediada por PD-1. PD-1 tem como função regular a atividade dos linfócitos T através da ligação a PD-L1 e PD-L2. Esta ligação inibe a proliferação dos linfócitos T, IFN- γ , TNF- α , produção de IL-2 e reduz a sobrevivência dos linfócitos T. As células cancerígenas podem expressar PD-L1 inativando a ativação dos linfócitos T. Adaptado de: Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. *Am J Clin Oncol.* 2016;39(1):98-106.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
2. Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut.* 2017;66(4):683-691.
3. Benson AB, 3rd, Venook AP, Cederquist L, et al. Colon Cancer, Version 1.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2017;15(3):370-398.
4. Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, et al. Rectal Cancer, Version 2.2018, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2018;16(7):874-901.
5. Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, et al. Colorectal cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin.* 2017;67(3):177-193.
6. Moghadamyeghaneh Z, Alizadeh RF, Phelan M, et al. Trends in colorectal cancer admissions and stage at presentation: impact of screening. *Surg Endosc.* 2016;30(8):3604-3610.
7. Gajewski TF, Schreiber H, Fu YX. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nat Immunol.* 2013;14(10):1014-1022.
8. Le DT, Durham JN, Smith KN, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science.* 2017;357(6349):409-413.
9. Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM, et al. Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-High Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol.* 2018;36(8):773-779.
10. Tariq K, Ghias K. Colorectal cancer carcinogenesis: a review of mechanisms. *Cancer Biol Med.* 2016;13(1):120-135.
11. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. *Am J Clin Oncol.* 2016;39(1):98-106.
12. Chung KY, Gore I, Fong L, et al. Phase II study of the anti-cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 monoclonal antibody, tremelimumab, in patients with refractory metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2010;28(21):3485-3490.
13. Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol.* 2010;28(19):3167-3175.
14. Lipson EJ, Sharfman WH, Drake CG, et al. Durable cancer regression off-treatment and effective reinduction therapy with an anti-PD-1 antibody. *Clin Cancer Res.* 2013;19(2):462-468.
15. Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med.* 2015;372(26):2509-2520.
16. Le DT, Kim TW, Van Cutsem E, et al. Phase II Open-Label Study of Pembrolizumab in Treatment-Refractory, Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer: KEYNOTE-164. *J Clin Oncol.* 2019;38(1):11-19.
17. Overman MJ, McDermott R, Leach JL, et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2017;18(9):1182-1191.
18. Lenz H-J, Lonardi S, Zagonel V, et al. Nivolumab (NIVO) + low-dose ipilimumab (IPI) as first-line (1L) therapy in microsatellite instability-high/DNA mismatch repair deficient (MSI-H/dMMR) metastatic colorectal cancer (mCRC): Clinical update. *Journal of Clinical Oncology.* 2019;37(15_suppl):3521-3521.
19. Marcus L, Lemery SJ, Keegan P, Pazdur R. FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Microsatellite Instability-High Solid Tumors. *Clin Cancer Res.* 2019;25(13):3753-3758.

20. Food U, Administration D. FDA grants nivolumab accelerated approval for MSI-H or dMMR colorectal cancer. In:2017.
21. European Medicines Agency. <https://www.ema.europa.eu/en>. Published 2020. Accessed2020.
22. US National Library of Medicine. Clinical Trials. <https://clinicaltrials.gov/>. Published 2019. Accessed2019.
23. Wang YJ, Fletcher R, Yu J, Zhang L. Immunogenic effects of chemotherapy-induced tumor cell death. *Genes Dis*. 2018;5(3):194-203.
24. Shahda S, Noonan AM, Bekaii-Saab TS, et al. A phase II study of pembrolizumab in combination with mFOLFOX6 for patients with advanced colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2017;35(15_suppl):3541-3541.
25. Goel HL, Mercurio AM. VEGF targets the tumour cell. *Nat Rev Cancer*. 2013;13(12):871-882.
26. Dagoglu N, Karaman S, Caglar HB, Oral EN. Abscopal Effect of Radiotherapy in the Immunotherapy Era: Systematic Review of Reported Cases. *Cureus*. 2019;11(2):e4103.
27. Segal NH, Kemeny NE, Cercek A, et al. Non-randomized phase II study to assess the efficacy of pembrolizumab (Pem) plus radiotherapy (RT) or ablation in mismatch repair proficient (pMMR) metastatic colorectal cancer (mCRC) patients. *Journal of Clinical Oncology*. 2016;34(15_suppl):3539-3539.
28. Geevarghese SK, Geller DA, de Haan HA, et al. Phase I/II study of oncolytic herpes simplex virus NV1020 in patients with extensively pretreated refractory colorectal cancer metastatic to the liver. *Hum Gene Ther*. 2010;21(9):1119-1128.
29. Park SH, Breitbach CJ, Lee J, et al. Phase 1b Trial of Biweekly Intravenous Pexa-Vec (JX-594), an Oncolytic and Immunotherapeutic Vaccinia Virus in Colorectal Cancer. *Mol Ther*. 2015;23(9):1532-1540.
30. Morelli MP, Xie C, Brar G, et al. A phase I/II study of pexa-vec oncolytic virus in combination with immune checkpoint inhibition in refractory colorectal cancer: Safety report. *Journal of Clinical Oncology*. 2019;37(4_suppl):646-646.
31. Butterfield LH. Cancer vaccines. *Bmj*. 2015;350:h988.
32. Gao D, Li C, Xie X, et al. Autologous tumor lysate-pulsed dendritic cell immunotherapy with cytokine-induced killer cells improves survival in gastric and colorectal cancer patients. *PLoS One*. 2014;9(4):e93886.
33. Caballero-Baños M, Benitez-Ribas D, Tabera J, et al. Phase II randomised trial of autologous tumour lysate dendritic cell plus best supportive care compared with best supportive care in pre-treated advanced colorectal cancer patients. *Eur J Cancer*. 2016;64:167-174.
34. Vermorken JB, Claessen AM, van Tinteren H, et al. Active specific immunotherapy for stage II and stage III human colon cancer: a randomised trial. *Lancet*. 1999;353(9150):345-350.
35. Hazama S, Nakamura Y, Tanaka H, et al. A phase II study of five peptides combination with oxaliplatin-based chemotherapy as a first-line therapy for advanced colorectal cancer (FXV study). *J Transl Med*. 2014;12:108.
36. Kaufman HL, Lenz HJ, Marshall J, et al. Combination chemotherapy and ALVAC-CEA/B7.1 vaccine in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2008;14(15):4843-4849.
37. Weixler B, Cremonesi E, Sorge R, et al. OX40 expression enhances the prognostic significance of CD8 positive lymphocyte infiltration in colorectal cancer. *Oncotarget*. 2015;6(35):37588-37599.
38. Tabernero J, Melero I, Ros W, et al. Phase Ia and Ib studies of the novel carcinoembryonic antigen (CEA) T-cell bispecific (CEA CD3 TCB) antibody as a single agent and in combination with atezolizumab: Preliminary efficacy and safety in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC). *Journal of Clinical Oncology*. 2017;35(15_suppl):3002-3002.
39. Soliman H, Mediavilla-Varela M, Antonia S. Indoleamine 2,3-dioxygenase: is it an immune suppressor? *Cancer J*. 2010;16(4):354-359.

40. Zhen YH, Liu XH, Yang Y, et al. Phase I/II study of adjuvant immunotherapy with sentinel lymph node T lymphocytes in patients with colorectal cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2015;64(9):1083-1093.
41. Ishikawa T, Okayama T, Sakamoto N, et al. Phase I clinical trial of adoptive transfer of expanded natural killer cells in combination with IgG1 antibody in patients with gastric or colorectal cancer. *Int J Cancer.* 2018;142(12):2599-2609.
42. Zhang C, Wang Z, Yang Z, et al. Phase I Escalating-Dose Trial of CAR-T Therapy Targeting CEA(+) Metastatic Colorectal Cancers. *Mol Ther.* 2017;25(5):1248-1258.
43. Schmoll HJ, Wittig B, Arnold D, et al. Maintenance treatment with the immunomodulator MGN1703, a Toll-like receptor 9 (TLR9) agonist, in patients with metastatic colorectal carcinoma and disease control after chemotherapy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2014;140(9):1615-1624.