

Bando FIN-RER

Sinossi dello Studio

Titolo dello studio: Ripristino funzionale dei linfociti T mediante modulazione metabolica per il trattamento dell'infezione cronica da HBV e predittori immunologici per ottimizzare l'efficacia terapeutica

Responsabile scientifico: Prof. Carlo Ferrari

AZIENDA/IRCCS: AZIENDA OSPEDALIERO-UNIVERSITARIA DI PARMA

Studio multicentrico Si No

Elenco dei centri partecipanti

Denominazione U.O.	AZIENDA/IRCCS
Malattie Infettive ed Epatologia	Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma
Malattie Infettive	Azienda USL – IRCCS di Reggio Emilia
Medicina Interna	Azienda Ospedaliero-Universitaria di Modena, Policlinico di Modena
Gastroenterologia ed Epatologia	Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano
Anatomia e Istologia patologica	Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma
Ematologia e Centro trapianti midollo osseo	Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma

Background e Razionale (massimo 3000 caratteri): Descrivere brevemente lo stato dell'arte sull'argomento ed il razionale che giustifica l'esecuzione dello studio

I linfociti T CD8, che svolgono un importante ruolo nel controllo antivirale, in corso di infezione cronica da HBV risultano profondamente disfunzionali e, per questo, sono definiti anche "exhausted", esauriti. Una loro ricostituzione funzionale è pertanto considerata una strategia razionale per trattare i pazienti con infezione cronica da HBV e per migliorare l'efficacia delle attuali terapie antivirali.

Nel laboratorio del proponente è stata recentemente eseguita un'analisi trascrittomiche di linfociti T CD8 HBV-specifici isolati da pazienti con epatite B cronica (CHB), al fine di identificare nuovi bersagli molecolari per strategie di ricostituzione funzionale dei linfociti T, mirate a curare l'infezione da HBV. Questi studi hanno rivelato una serie di anomalie trascrizionali e metaboliche nei linfociti T CD8 HBV-specifici, con un'alta percentuale di mitocondri depolarizzati e un'elevata produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS). La correzione dell'eccesso di ROS tramite l'uso di antiossidanti mitocondriali, come MitoQ, si è dimostrata efficace nel migliorare la funzione e la vitalità dei linfociti T CD8 *in vitro* (Fiscaro P. et al. *Nat Med* 2017, 23:327). Tale strategia richiede di essere validata *in vivo*, per comprendere se l'immunomodulazione mirata a correggere le alterazioni metaboliche dei linfociti T CD8 possa rappresentare una strategia affidabile per il trattamento dell'epatite B cronica. Poiché si prevede che solo una parte dei pazienti cronici risponda alle strategie di ricostituzione funzionale dei linfociti T, la definizione di un algoritmo predittivo affidabile di risposta al trattamento potrebbe permettere di selezionare i gruppi di pazienti che possono rispondere a interventi immunomodulanti, evitando inutili terapie a pazienti che si prevede non rispondano. In linea con i modelli animali di infezione virale cronica, i nostri dati preliminari indicano che i pazienti che hanno popolazioni di linfociti T CD8 HBV-specifici esauriti in fase terminale più espanse sono i più refrattari *in vitro* agli interventi di modulazione immunitaria.

Il presente progetto rappresenta la naturale prosecuzione degli studi svolti nell'ambito del Programma Strategico di Ricerca Regione-Università 2010-2012, dal titolo: "A tailored approach to the immune-monitoring and clinical management of viral and autoimmune diseases", grazie al quale è stato possibile identificare l'antiossidante mitocondriale MitoQ, quale immunomodulante per la correzione della disfunzione linfocitaria in corso di CHB. Sulla base dei risultati osservati *in vitro* e dei dati di farmacocinetica e tollerabilità raccolti in trial di fase I e II (Smith RAJ, et al. *Ann N Y Acad Sci.* 2010, 1201:96; Zinovkin RA, et al. *Curr Mol Pharmacol* 2019, 12:202), si vorrebbe testare questo composto in una sperimentazione clinica pilota di fase II, condotta autonomamente in un ambiente totalmente accademico.

Obiettivi dello studio (massimo 3000 caratteri): Endpoint primario; Endpoint secondari; Obiettivi esplorativi

Obiettivi:

- Dimostrare che la modulazione metabolica dei linfociti T CD8 rappresenta un'opzione per la cura dell'epatite cronica B, valutando se l'attività di ripristino dei linfociti T mostrata dall'antiossidante mitocondriale MitoQ *in vitro* sia espressa anche *in vivo*. Questo obiettivo sarà perseguito tramite uno studio clinico pilota condotto in pazienti con infezione cronica da HBV *naïve* a precedenti trattamenti e in pazienti in trattamento con analoghi nucleos(t)idici (NUC) (**Work Package 1**)
- Validare *in vivo* un algoritmo multiparametrico, precedentemente identificato *in vitro*, per prevedere la risposta dei pazienti al trattamento con MitoQ (**Work Package 2**) ed eventualmente aumentare il suo livello di efficacia predittiva, utilizzando i risultati degli studi eseguiti nel contesto del Work Package 1.

Studio clinico

Endpoint primario

Pazienti in trattamento con NUC:

- percentuale di soggetti con riduzione di HBsAg di almeno 1 log₁₀ a 240 giorni dall'inizio della terapia.

Pazienti naïve al trattamento:

- percentuale di soggetti con normalizzazione delle ALT e riduzione di HBV-DNA di almeno 0,5 log₁₀ a 240 giorni dall'inizio della terapia.

Endpoint secondari di efficacia

Pazienti in trattamento con NUC

- Percentuale di soggetti con riduzione di HBsAg fra 0,3 e 1,0 log₁₀ UI/ml
- Percentuale di soggetti con HBsAg <100 UI/ml o <10 UI/ml
- Percentuale di soggetti con perdita di HBsAg ± sieroconversione ad anti-HBs e tempo intercorso dal basale
- Variazioni dei livelli di HBsAg, HBcrAg, HBV RNA e HBV DNA

Pazienti naïve al trattamento

- Percentuale di soggetti con riduzione di HBV DNA ≥0,3 log₁₀ UI/ml o ≥0,5 log₁₀ UI/ml o ≥1,0 log₁₀ UI/ml
- Percentuale di soggetti con negativizzazione di HBV DNA e/o normalizzazione dei livelli di ALT e tempo intercorso dal basale

Endpoint secondari di sicurezza/tolleranza

- Percentuale di soggetti che riportano un evento avverso di grado 3 o 4
- Percentuale di eventi avversi di tutti i gradi
- Percentuale di soggetti con aumento dei livelli di ALT ≥10 x limite superiore della norma a ogni tempo di rilevazione

Endpoint esplorativi

Evoluzione di fenotipo, attività antivirale, metabolismo cellulare, funzioni mitocondriali e del proteasoma, attività di riparazione del DNA e di regolazione epigenetica e dei profili trascrizionali a livello dei linfociti CD8 HBV-specifici dal pre-terapia al giorno 180.

Disegno dello studio: Indicare la tipologia di studio [Osservazionale (prospettico/retrospettivo/retrospettico), interventistico (randomizzato/non randomizzato, in aperto/in cieco, controllato con placebo/con comparatore attivo/non controllato), studio su campioni biologici]

Studio interventistico randomizzato, in aperto, controllato con placebo nei pazienti in trattamento con NUC; per i pazienti naïve al trattamento con NUC, non si utilizzerà un gruppo di controllo con placebo, ma si valuterà l'efficacia della somministrazione di MitoQ rispetto al basale. Parallelamente alla valutazione dell'efficacia virologica e clinica, verrà eseguita in ciascun paziente una valutazione dell'effetto della terapia sul profilo immunologico/metabolico/molecolare dei linfociti T CD8 HBV-specifici.

Popolazione dello studio: Condizione/malattia; Numero di pazienti da arruolare; Criteri di inclusione; Criteri di esclusione; Se non applicabile riportare NA.

Il trial clinico prevede l'inclusione delle seguenti casistiche di soggetti adulti:

1. Pazienti con epatite B cronica HBeAg-negativa in trattamento con NUC da almeno 1 anno. I pazienti saranno randomizzati con un rapporto 1:1 a ricevere MitoQ (40 pz) o placebo (40 pz) in combinazione con NUC per 6 mesi. In seguito alla somministrazione di MitoQ, i pazienti continueranno la terapia con NUC.
2. Pazienti con epatite B cronica HBeAg-negativa naïve al trattamento (20 pz), che riceveranno MitoQ in monoterapia per 6 mesi, prima di iniziare la terapia con NUC a lungo termine. I pazienti appartenenti a questo braccio sperimentale saranno accuratamente selezionati in base ai livelli di ALT (ALT stabilmente elevate

senza fasi di riacutizzazione documentate, con livelli <2,5 volte il limite superiore della norma allo screening), valori di HBV DNA di 4-6 log e malattia epatica lieve (Fibroscan ≤ 8 Kpa), con ottimale preservazione della riserva epatica, cioè pazienti senza cirrosi.

Criteri di inclusione per i pazienti in trattamento con NUC

- 1) Pazienti con CHB HBeAg-negativi, in trattamento documentato con NUC da ≥ 1 anno con un valore di HBV DNA inferiore al limite di quantificazione documentato in base alla PCR (Polymerase Chain Reaction) eseguita localmente allo screening. I NUC possono includere solo tenofovir/TDF, tenofovir/TAF o entecavir
- 2) HBsAg >100 UI/ml ma <3.000 UI/ml allo screening
- 3) Soggetti maschi e femmine di età superiore ai 18 anni (inclusi) il giorno dello screening (limite max età 70 anni)
- 4) Ecografia, tomografia computerizzata (TC) o risonanza magnetica (RM) nei 6 mesi che precedono la data dello screening senza evidenze di carcinoma epatocellulare (HCC)
- 5) Nessuna evidenza di fibrosi avanzata o cirrosi allo screening: valore di elastografia (Fibroscan) ≤ 8 kPa, ultrasonografia senza segni di cirrosi e piastrine $\geq 150 \times 10^9/l$
- 6) Nessuna evidenza di fibrosi avanzata o cirrosi prima dell'inizio della terapia con NUC
- 7) Livelli di ALT nell'intervallo di normalità del laboratorio locale (<ULN) allo screening
- 8) Test di gravidanza su siero o urina negativo (per le donne in grado di procreare) documentato eseguito nelle 24 ore che precedono la prima dose prodotto oggetto di studio/placebo. Se il test di gravidanza su urina è positivo, è necessario un test su siero di conferma
- 9) Le donne in grado di procreare devono accettare di utilizzare un metodo contraccettivo altamente efficace dallo screening per l'intera durata dello studio e per 7 giorni dopo l'ultima dose del prodotto in studio/placebo. Gli uomini con partner femminili in grado di procreare devono accettare di utilizzare o che le proprie partner utilizzino un metodo contraccettivo altamente efficace dallo screening per l'intera durata dello studio e per 7 giorni dopo l'ultima dose del prodotto in studio/placebo
- 10) Soggetti in grado di comprendere e firmare il modulo di consenso informato scritto.

Criteri di inclusione per i pazienti *naïve* al trattamento con NUC

- 1) Pazienti con CHB HBeAg negativi mai sottoposti a trattamento specifico per l'epatite B
- 2) Soggetti maschi e femmine di età superiore ai 18 anni (inclusi) al giorno dello screening (limite max età 70 anni)
- 3) Ecografia, tomografia computerizzata (TC) o risonanza magnetica (RM) nei 6 mesi che precedono la data dello screening senza evidenze di carcinoma epatocellulare (HCC)
- 4) Evidenza di malattia epatica lieve allo screening: valore di elastografia (Fibroscan) ≤ 8 kPa, ultrasonografia senza segni di cirrosi e piastrine $\geq 150 \times 10^9/l$
- 5) HBV DNA di 4-6 log₁₀ documentato in base alla PCR eseguita localmente allo screening
- 6) ALT stabilmente elevate senza fasi documentate di riacutizzazione, con livelli <2,5 volte il limite superiore alla norma allo screening
- 7) Test di gravidanza su siero o urina negativo (per le donne in grado di procreare) eseguito nelle 24 ore che precedono la prima dose del prodotto in studio. Se il test di gravidanza su urina è positivo, è necessario un test su siero di conferma
- 8) Le donne in grado di procreare devono accettare di utilizzare un metodo contraccettivo altamente efficace dallo screening per l'intera durata dello studio e per 7 giorni dopo l'ultima dose del prodotto in studio. Gli uomini con partner femminili in grado di procreare devono accettare di utilizzare o che

le proprie partner utilizzino un metodo contraccettivo altamente efficace dallo screening per l'intera durata dello studio e per 7 giorni dopo l'ultima dose del composto in studio

- 9) Soggetti in grado di comprendere e firmare il modulo di consenso informato scritto.

Criteria di esclusione

- 1) Qualsiasi storia di epatopatia con fasi di insufficienza epatica, inclusi storia di ascite, encefalopatia e sanguinamento gastrointestinale
- 2) Qualsiasi segno di varici esofagee e/o gastriche
- 3) Parametri di laboratorio al di fuori delle soglie di riferimento:
 - a) globuli bianchi <4.000 cellule/ μ l;
 - b) emoglobina <11 g/dl per le donne, <13 g/dl per gli uomini;
 - c) piastrine <150.000 per μ l;
 - d) albumina <3,5 g/dl;
 - e) rapporto internazionale normalizzato (INR) >1,5;
 - f) bilirubina totale >1,2 mg/dl (>20,52 μ mol/l);

Nota: i soggetti con livelli elevati di bilirubina indiretta e sindrome di Gilbert nota possono essere inclusi, se la bilirubina diretta rientra nei limiti di normalità.

 - g) alfa-fetoproteina (AFP) >20 ng/ml;
 - h) clearance della creatinina (utilizzando il metodo di Cockcroft-Gault) <60 ml/min.
- 4) Infezione concomitante con virus dell'epatite C (HCV) (positività per gli anticorpi anti-HCV), virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 (HIV-1) (positività per gli anticorpi anti-HIV) o virus dell'epatite D (HDV) (positività per gli anticorpi anti-HDV)
- 5) Evidenza, storia o sospetto di carcinoma epatocellulare
- 6) Tumore nei 5 anni che precedono lo screening, con l'eccezione di tumori specifici curati con resezione chirurgica (carcinoma della pelle a cellule basali, ecc.). *Nota: i soggetti in valutazione per un possibile tumore maligno non sono idonei*
- 7) Patologia cardiovascolare, polmonare o neurologica significativa
- 8) Trapianto di organo solido o di midollo osseo
- 9) Trattamento con immunomodulatori nei 3 mesi che precedono lo screening o previsto trattamento prolungato con immunomodulatori (per es., corticosteroidi, anti-TNF) o agenti biologici (per es., anticorpo monoclonale, IFN)
- 10) Nota ipersensibilità o resistenza al prodotto in studio o agli eccipienti della formulazione
- 11) Diagnosi di malattia autoimmune (per es., lupus eritematoso sistemico, artrite reumatoide, malattia infiammatoria intestinale, epatite autoimmune, sarcoidosi, psoriasi di gravità superiore a lieve, uveite autoimmune), diabete mellito scarsamente controllato, malattia polmonare ostruttiva cronica grave, emoglobinopatia, retinopatia o pazienti immunosoppressi
- 12) Uso di un altro agente sperimentale nei 6 mesi che precedono lo screening e per l'intera durata dello studio
- 13) Abuso di alcool o sostanze che, a parere dello sperimentatore, potrebbe interferire con la compliance
- 14) Qualsiasi condizione medica che, a giudizio dello sperimentatore, potrebbe interferire con la valutazione degli obiettivi dello studio o la sicurezza dei soggetti.

Se studio Interventistico specificare l'intervento; se non applicabile riportare NA.

Pazienti con epatite B cronica HBeAg-negativa già in trattamento con NUC: somministrazione di composto ad azione antiossidante mitocondriale (MitoQ) alla dose di 20 mg/die per os o di placebo in combinazione con NUC per 6 mesi. In seguito alla somministrazione di MitoQ, i pazienti continueranno la terapia con NUC

Pazienti con epatite B cronica HBeAg-negativa naïve al trattamento: somministrazione di MitoQ in monoterapia per 6 mesi, prima di iniziare la terapia con NUC a lungo termine

Tempistica dello studio: Durata dello studio per paziente; Durata dell'arruolamento; Durata dello studio in toto; se non applicabile riportare NA.

Durata dello studio per paziente: i pazienti verranno inizialmente valutati per verificare che siano in possesso dei requisiti per partecipare allo studio (1 mese di screening), quindi riceveranno MitoQ per 6 mesi e saranno monitorati per ulteriori 2 mesi (follow-up), per un totale di 9 mesi circa.

Durata dell'arruolamento: 2 anni

Durata dello studio in toto: 3 anni

Per la dichiarazione dei conflitti d'interesse si rinvia al relativo documento presentato e valutato dal Comitato Etico di competenza ai sensi di legge.