

**MITO END-3: Studio di fase 2 randomizzato di confronto tra carboplatino-paclitaxel e carboplatino-paclitaxel-avelumab in pazienti con carcinoma dell'endometrio avanzato (stadio III-IV) o ricorrente.
Numero EudraCT: 2016-004403-31**

Promotore non-profit: Istituto Nazionale per lo studio e la cura dei Tumori - IRCCS Fondazione G Pascale di Napoli

Principal Investigator: Dott. Sandro Pignata, Dipartimento Uro-ginecologico - Istituto Nazionale per lo studio e la cura dei Tumori - IRCCS Fondazione G Pascale di Napoli

Medico Coordinatore: Dott. Gennaro Daniele, Unità Sperimentazioni Cliniche - Istituto Nazionale per lo studio e la cura dei Tumori - IRCCS Fondazione G Pascale di Napoli

Statistico: Prof. Ciro Gallo, Seconda Università di Napoli

Steering Committee: Sandro Pignata, Francesco Perrone, Gennaro Daniele, Ciro Gallo

Inferimera di Ricerca: Jane Bryce

Data Manager: Giuliana Canzanella

Comitato Etico Coordinatore: Istituto Nazionale per lo studio e la cura dei Tumori - IRCCS Fondazione G. Pascale di Napoli

SINOSI

TITOLO	MITO END-3: Studio di fase 2 randomizzato di confronto tra carboplatino-paclitaxel e carboplatino-paclitaxel-avelumab in pazienti con carcinoma dell'endometrio avanzato (stadio III-IV) o ricorrente.
Tipo di Studio	Fase 2, Randomizzato, Multicentrico
Background	<p>Il carcinoma dell'endometrio (EC) rappresenta la neoplasia ginecologica più frequente, con 52.630 nuovi casi e circa 8590 morti stimati nel mondo nel 2014. Il rischio di sviluppare un EC durante la vita di una donna è di circa il 2,7% sulla base dei dati di incidenza 2008-2010. Il 75% dei EC viene diagnosticato ad uno stadio precoce (FIGO I-II) con una sopravvivenza a 5 anni che varia dal 74 al 91% delle pazienti. Per le pazienti con una malattia avanzata (FIGO III-IV), la sopravvivenza a 5 anni è del 57-66% (Stadio III) e del 20-26% (Stadio IV). Classicamente l'EC è stato suddiviso in due classi sulla base dell'istologia; i recenti progressi in termini di genomica ha portato alla distinzione di almeno 4 tipi molecolari di EC: 1) ultramutati POLE; 2) con instabilità dei microsatelliti; 3) basso numero di copie; 4) alto numero di copie.</p> <p>Al momento il trattamento standard delle pazienti con lo stadio precoce consiste nella chirurgia seguita dal trattamento adiuvante a seconda dello stadio.</p> <p>Per le pazienti con tumore avanzato le uniche opzioni terapeutiche sono rappresentate da chemioterapia o ormonoterapia. I dati recenti supportano l'utilizzo della doppietta carboplatino-paclitaxel in alternativa alla più tossica e similmente attiva combinazione di cisplatino-adriamicina-paclitaxel. I trattamenti ormonali studiati includono gli agenti progestinici (megestrol acetato e medrossiprogesterone), anti-estrogeni (tamoxifene), o inibitori dell'aromatasi. Il tasso di risposte a questi agenti si attesta intorno al 30%, mentre la PFS mediana è di circa 3 mesi. Per le donne che progrediscono alla prima linea di trattamento, le opzioni terapeutiche sono limitate ed i trattamenti di seconda linea sono largamente inefficaci. La comprensione molecolare dei EC ha condotto all'identificazione di potenziali farmaci a bersaglio che nella maggior parte dei casi però non hanno avuto alcun</p>

impatto sulla sopravvivenza o sulle risposte. Al momento non vi sono infatti farmaci a bersaglio molecolare approvati per il EC. Per questo motivo sono necessari nuovi paradigmi terapeutici che migliorino significativamente la prognosi delle donne affette da EC. L'importanza di un sistema immunocompetente è oggi un dato riconosciuto per il controllo della crescita tumorale. Il carcinoma endometriale è un tumore immunogenico e una componente immunologica è presente e attiva sia nell'endometrio normale sia nel carcinoma. Recenti evidenze hanno mostrati una correlazione tra la presenza di linfociti T infiltranti il tumore (TILS) e la prognosi favorevole. In particolare, la presenza di linfociti T CD8+ ed il rapporto tra questi e le cellule T FOXP3+ regolatorie sembra correlare con la lunga sopravvivenza e la buona prognosi delle pazienti con EC. Per tale motivo l'immunoterapia rappresenta una potenziale strategia terapeutica per rinforzare le terapie classiche nel EC.

Il blocco dei checkpoints immunologici rappresenta una dei più recenti approcci per contrastare l'immunosoppressione indotta dal cancro. L'asse di segnale PD-1/PD-L1 è uno dei più importanti focus di questo approccio. Quando il recettore PD-1 si lega al suo ligando PD-L1 il risultato che si ottiene è una inibizione della risposta linfocitaria T mediata, conosciuta anche con il nome di resistenza adattiva. L'espressione di PD-L1 nei tumori è stata associata ad una cattiva prognosi. Pertanto, PD-L1 è stato messo in relazione all'abilità del tumore di sfuggire al controllo del sistema immunitario e la sua espressione viene attualmente considerata come un importante, ma non definitivo, biomarker predittivo di risposta ai trattamenti anti PD1/PD-L1. Ad oggi diversi anticorpi monoclonali antiPD-1 o anti PD-L1 sono stati valutati o sono oggetto di valutazione in diversi tumori avendo finora dimostrato interessanti dati di efficacia e bassa tossicità.

Ristabilire la risposta immunitaria dell'ospite contro il tumore può rappresentare un'importante strategia terapeutica anche nel EC dove alcuni studi hanno recentemente valutato l'impatto della terapia anti PD-1/PD-L1. Vanderstraeten et al hanno valutato l'espressione di alcune molecole immunitarie in campioni

di EC, trovando che PD-L1 è iperespresso fino nel 92% di casi. Inoltre, un alto carico mutazionale è stato messo in relazione con la presenza di TILs e l'espressione di PD-1/PD-L1 suggerendo che le pazienti POLE ultramutate possano essere le candidate migliori ad un trattamento con farmaci agenti su questo asse. Al momento, tuttavia, non esistono dati clinici sull'uso di questi farmaci in pazienti con EC e solo 2 trials sono in corso con Pembrolizumab, un anti PD-1, nelle pazienti affette da tumore dell'endometrio (da [www.Clinical Trial.gov](http://www.ClinicalTrial.gov): NCT02549209; NCT02630823). Avelumab (MSB0010718C) è un anticorpo monoclonale, umano, anti PD-L1 (IgG1) attualmente in fase di studio. Questo farmaco impedisce il legame PD-1/PD-L1 ma non quello PD-1/PD-L2. Quest'attività selettiva dovrebbe garantire l'omeostasi immunitaria riducendo l'autoimmunità. Inoltre, grazie alla sua Fc umana, si ritiene che avelumab induca la risposta citotossica cellulo-mediata dipendente da anticorpi (ADCC). All'ASCO del 2016, sono stati presentati incoraggianti risultati clinici di avelumab in diversi tipi di tumore incluso i tumori del polmone, stomaco, ovaio e altri (NCT01772004). E' stato mostrato che certi agenti chemioterapici hanno proprietà immuno-stimolatorie suggerendo il razionale per combinare questi farmaci con alcuni immunoterapeutici. Studi in corso stanno valutando la sicurezza e l'efficacia di Avelumab in combinazione con la chemioterapia in diversi tumori, anche con carboplatino-paclitaxel nel tumore ovarico (NCT02718417).

Pertanto, l'immunoterapia può rappresentare un'importante strategia nel EC dove non sono disponibili farmaci a bersaglio molecolare. Questo studio ha lo scopo di valutare la sicurezza e l'attività di Avelumab in combinazione con carboplatino e paclitaxel nel trattamento delle pazienti affette da EC avanzato o ricorrente.

Obiettivi

Obiettivo Primario:

- Confrontare la progression-free survival (PFS) delle pazienti con EC avanzato o ricorrente trattate con:
 - Carboplatin+Paclitaxel
ovvero
 - Carboplatin+Paclitaxel+Avelumab.

Obiettivi Secondari:

- **Confrontare** i due bracci di trattamento: (Carboplatin+Paclitaxel e Carboplatin+Paclitaxel+Avelumab) in termini di:
 - Sopravvivenza Globale (OS)
 - Tasso di risposte (RECIST 1.1)
 - Qualità della Vita
- Valutare la sicurezza e tollerabilità di Carboplatin+Paclitaxel+Avelumab
- Descrivere le tossicità sintomatiche riportate dai pazienti ("Italian PRO-CTCAE")

Obiettivi esploratori:

- Investigare la relazione tra l'espressione in tessuto d'archivio di PD-L1 e risposta ad avelumab.
- Valutare la instabilità dei microsatelliti (MSI) usando il testi immunoistochimico del mismatch repair (MMR) o l'MSI test.
- Valutare le mutazioni del dominio esonuclease di POLE analizzando hot spots mutazionali negli esoni 9 e 13.
- Valutare la relazione tra le mutazioni di POLE la deficienza del MMR con gli outcome di efficacia e di attività (PFS, OS e risposte)
- Investigare la relazione di altri marcatori tissutali o circolanti e la risposta al trattamento con Avelumab (opzionale)

Disegno dello studio

Studio di Fase 2 randomizzato, in aperto, di valutazione dell'effetto di Carboplatino+Paclitaxel+Avelumab vs Carboplatino+Paclitaxel sulla PFS in pazienti affette da EC ricorrente o avanzato. Lo studio valuterà l'ipotesi che l'aggiunta di Avelumab alla chemioterapia con

Carboplatino+Paclitaxel prolunghi la PFS rispetto alla sola chemioterapia.

Circa 120 pazienti saranno arruolate in diversi centri. Le pazienti saranno stratificate per istologia (sieroso papillare e cellule chiare vs gli altri istotipi) e stato di malattia (avanzato vs ricorrente) e centro. Le pazienti eleggibili saranno randomizzate (1:1) a ricevere:

Carboplatino+Paclitaxel o

Carboplatino+Paclitaxel+Avelumab.

ARM A: Carboplatino AUC 5+Paclitaxel 175 mg/m² q 21 per 6-8 cicli

ARM B: Carboplatino AUC 5+ Paclitaxel 175 mg/m²+Avelumab 10 mg/kg q 21 per 6 -8 cicli + Avelumab 10 mg/kg q14 fino a progressione o tossicità inaccettabile.

Le pazienti potranno ricevere dai 6 agli 8 cicli di chemioterapia (a scelta dell'investigatore). La progressione di malattia, la tossicità inaccettabile o la scelta del paziente di interrompere il trattamento precocemente potranno interrompere la chemioterapia prima di tale durata. Ogni ciclo consta di 3 settimane. Nel braccio B le pazienti la cui malattia non sia progredita al momento della fine della chemioterapia riceveranno Avelumab in mantenimento (10 mg/kg i.v. q14) fino a progressione di malattia o tossicità inaccettabile. La risposta di malattia sarà valutata ogni 9 settimane secondo i criteri RECIST v1.1. La tossicità verrà valutata dal singolo investigatore mediante i controlli clinico-laboratoristici di routine e la severità degli eventi avversi verrà graduata secondo i criteri CTCAE (v4.03). La tossicità sintomatica riportata dai pazienti sarà raccolta usando la versione italiana dei PRO-CTCAE.

Tutte le pazienti, saranno seguite per almeno 36 mesi dalla randomizzazione per la sopravvivenza.

Criteri di inclusione e di esclusione

Criteri d'inclusione

1. Donne di età ≥ 18 al momento della randomizzazione
2. ECOG Performance Status: 0–1
3. Pazienti con un EC avanzato (FIGO III-IV) di nuova

diagnosi, confermato istologicamente, o ricorrente (tutti gli istotipi eccetto sarcoma e carcinosarcoma)

4. La pazienti possono aver ricevuto terapia adiuvante ma devono aver completato il trattamento da almeno 6 mesi dall'inizio dello studio. Le pazienti che abbiano ricevuto radioterapia devono aver completato il trattamento almeno 28 giorni prima della registrazione allo studio.
 5. Malattia misurabile secondo RECIST 1.1
 6. Disponibilità di tessuto tumorale per biomarcatori
 7. EC incluso: endometrioide, sieroso-papillare, a cellule chiare e tutti i carcinomi.
 8. Funzione ematologica adeguata: Neutrofili (ANC) $\geq 1.5 \times 10^9/L$, Piastrine $\geq 100 \times 10^9/L$, e Emoglobina ≥ 9 g/dL (anche dopo trasfusione)
 9. Funzionalità epatica adeguata: bilirubin totale ≤ 1.5 x il limite massimo del range di normalità (ULN) e AST/ALT ≤ 2.5 x ULN (o ≤ 5 x ULN se metastasi epatiche presenti)
 10. Funzionalità renale adeguate: clearance della creatinina ≥ 50 mL/min secondo la formula di Cockcroft-Gault o creatinina serica ≤ 1.5 ULN.
 11. Fosfatasi alcalina ≤ 1.5 x ULN (if > 1.5 x ULN, la frazione epatica deve essere ≤ 1.5 ULN)
 12. Consenso informato scritto
 13. Le pazienti fertili devono avere un test di gravidanza su siero negativo (beta-HCG) allo screening. Si considerano fertili le donne che non siano state sterilizzate chirurgicamente o che abbiano avuto cicli mestruali nell'ultimo anno.
 14. Se sussiste un rischio di concepimento devono instaurarsi tutti i mezzi di contraccezione altamente efficaci del caso (Note: Gli effetti di Avelumab sul prodotto del concepimento sono sconosciuti,
-

pertanto la paziente deve essere d'accordo ad utilizzare 2 metodi contraccettivi altamente efficaci definiti come metodi il cui tasso di fallimento è inferiore all'1%/anno) da almeno 28 giorni prima dell'inizio e fino ad almeno 60 giorni dopo la fine del trattamento con Avelumab.

Criteri d'esclusione

1. Gestanti e donne in allattamento
2. Metastasi cerebrali eccetto:
 - metastasi trattate localmente e che siano clinicamente stabili per almeno 2 settimane prima dell'arruolamento.
 - metastasi che non diano luogo a sintomi neurologici (sono ammessi anche eventuali sintomi legati al trattamento)
 - pazienti non in trattamento con steroidi o in trattamento con una dose stabile o decrescente di ≤ 10 mg al giorno di prednisone (o equivalente)
3. Precedente trattamento per la malattia metastatica e/o precedente trattamento con un anti-PD-1, anti-PD-L1, o anti-PD-L2. Il precedente trattamento ormonale per la malattia avanzata è permesso, ma il trattamento deve essere sospeso almeno 28 giorni prima della registrazione nello studio.
4. Storia di Anafilassi o asma non controllato (3 o più caratteristiche dell'asma parzialmente controllato)
5. Ipersensibilità nota ad Avelumab o uno dei suoi eccipienti, incluse le reazioni di ipersensibilità severe agli anticorpi monoclonali (NCICTCAE v4.03 $\geq G3$)
6. Trapianto d'organo precedente, incluso il

trapianto di cellule allogenico staminali.

7. Infezioni acute o croniche significative incluse:

- Storia nota di test positivo per HIV o AIDS conosciuta
- Test positivo per HBV e/o presenza di HCV RNA in caso di anticorpi anti-HCV)
- Evidenza di malattia interstiziale del polmone o polmonite non-infettiva attiva
- Infezione attiva richiedente trattamento sistemico
- Storia nota di infezione da TB (Bacillus tuberculosis) attiva

8. Malattie autoimmuni attive che possono deteriorare ricevendo un trattamento immunostimolante:

- sono eleggibili pazienti con: diabete di tipo I, vitiligine, psoriasi, ipo- o iper-tiroidismo che non richiedano un trattamento attivo immunosoppressivo
- Pazienti in trattamento ormonale sostitutivo con corticosteroidi sono eleggibili se: i corticosteroidi sono somministrati a scopo esclusivamente sostitutivo e le dosi sono ≤ 10 mg di prednisone (o dose equivalente di altro steroide)
- La somministrazione di steroidi per via topica o che in generale limita l'esposizione sistemica è accettabile.

9. Tossicità persistente legata alla precedente terapia > Grado 1 dei NCI-CTCAE v 4.03 eccetto alopecia e neurotossicità per le quali è accettabile il grado ≤ 2 dei NCI-CTCAE v 4.03

10. Altra neoplasia nei precedenti 5 anni eccetto

tumore della cute non-melanoma e tumore della cervice in situ.

11. Trattamento concomitante con farmaci immunosoppressivi o sperimentali ad eccezione dei seguenti: a) somministrazione intranasale o inalatoria di steroidi, steroidi per via locale o iniezione locale di steroidi (i.e. intra-articolare); b) Steroidi sistemici a dosi giornaliere ≤ 10 mg di prednisone (o equivalenti); c) steroidi somministrati come premedicazione di reazione di ipersensibilità (i.e. premedicazione CT)
 12. Malattia cardiologica attiva:
 - Infarto miocardico o angina instabile entro i 6 mesi precedenti all'inizio dello studio.
 - Storia di aritmia ventricolare seria (i.e., tachicardia o fibrillazione ventricolare), blocco atrio-ventricolare di alto grado altra aritmia cardiaca richiedente trattamento (eccetto: fibrillazione atriale ben controllata); storia di prolungamento tratto QT.
 - Scompenso cardiaco congestizio di classe III New York Heart Association (NYHA) o maggiore; frazione di eiezione ventricolare $sx < 40\%$.
 13. Abuso di alcool o droghe
 14. Vaccinazione entro le 4 settimane dalla prima dose di Avelumab e durante il trattamento sperimentale ad eccezione dei vaccini inattivati
 15. Qualsiasi disturbo psichiatrico o condizioni che possa proibire o impedire la sottoscrizione informata del consenso.
 16. Qualsiasi altra condizione che a giudizio dell'investigatore possa porre un rischio o compromettere la tolleranza della paziente al
-

trattamento in studio.(ad esempio, malattie infiammatorie croniche intestinali, asma non controllato).

Campione dello studio	120 pazienti
Durata della partecipazione delle pazienti	La durata della partecipazione della singola paziente nello studio è calcolata approssimativamente in 36 mesi più due settimane così suddivisi: screening (2 settimane), 4 mesi di chemioterapia, 12-15 mesi di somministrazione avelumab e 15 mesi di follow-up per la sopravvivenza. La reale durata della partecipazione di ogni singola paziente può variare in funzione del fatto che le pazienti riceveranno il trattamento sperimentale fino a progressione.
Numero di centri approssimativo	Circa 37 centri saranno attivati in Italia
Durata stimata dello studio	La durata stimata dello studio è di circa 60 mesi. Per l'arruolamento delle pazienti sono calcolati 24 mesi e 36 mesi dall'ultima paziente arruolata sono necessari per il follow-up.
Farmaco Sperimentale	Avelumab 10 mg/kg in combinazione con Carboplatino e paclitaxel entrambi alla dose standard
Farmaci chemioterapici	Carboplatino AUC 5 + Paclitaxel 175 mg/mq
Trattamenti Concomitanti	<p>Tutti i trattamenti che lo sperimentatore riterrà necessari al benessere delle pazienti saranno somministrati a discrezione dell'investigatore. Saranno registrati tutti i farmaci assunti dalle pazienti, inclusi i farmaci senza obbligo di prescrizione (OTC), i farmaci prescritti dal medico curante, gli integratori e supplementi (incluso: erbe) nonché i farmaci endovenosi e i fluidi somministrati. È consentita la palliazione dei sintomi e la terapia di supporto per le condizioni intercorrenti e la gestione dei sintomi (es. trasfusione, utilizzo di fattori di crescita /EPO, antibiotici, premedicazione antiemetica, anti-diarroici e/o lassativi)</p> <p>I farmaci seguenti sono proibiti:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Farmaci antinoplastici o terapie biologiche • Chemioterapia o immunoterapia non specificata nel protocollo • Farmaci sperimentali diversi da Avelumab • Vaccini vivi entro le 4 settimane dall'inizio del trattamento e durante il trattamento in studio.

- Cortisonici sistemici somministrati non allo scopo di palliare sintomi di un evento di interesse clinico a potenziale etiologia immunologica. E' consentito l'utilizzo di cortisonici nella premedicazione all'infusione di Carboplatino e paclitaxel
- Radioterapia
- inibitori forti del CYP3A4
- **Non vi sono farmaci proibiti nella fase di follow-up post progressione.**

Efficacy Evaluation

L'end-point primario dello studio è la PFS definita come il tempo intercorrente tra la randomizzazione e il primo evento tra: PD e morte. La PD e la risposta obiettiva saranno valutate in accordo ai criteri RECIST 1.1. Dopo la progressione tutte le pazienti saranno seguite per la sopravvivenza.

Safety Evaluation

La sicurezza delle pazienti verrà valutata per tutta la durata dello studio. Le tossicità saranno caratterizzate in termini di serietà sia secondo i criteri CTCAE v 4.03 sia in termini di azioni intraprese riguardo al trattamento sperimentale. Tutti gli AEs a etiologia ignota associati all'esposizione ad avelumab dovranno essere valutati per determinare se costituiscono eventi di interesse clinico (ECI) a potenziale eziologia immunologica (AEs immuno-relati, irAES). Gli AEs saranno raccolti durante tutto il trattamento sperimentale e durante il follow-up. Dopo 3 cicli di trattamento le pazienti riceveranno cicli addizionali se continueranno a mostrare almeno una stabilità di malattia ed una buona tolleranza al farmaco. Tutti i pazienti che avranno ricevuto almeno una dose di trattamento sperimentale saranno considerati valutabili per l'analisi di tossicità.

Obiettivi esploratori

L'espressione di PD-L1 nel tessuto tumorale sarà misurata tramite IHC per valutarne il suo potenziale ruolo predittivo della risposta ad avelumab.

Sarà valutato il fenotipo MSI attraverso:

- 1) **MMR IHC** per determinare l'espressione proteica di MLH1 (mutL homologue 1), MSH2 (mutS homologue 2), MSH6 (MSH6, mutS homologue) e PMS2 (post-meiotic segregation increased 2).
La perdita di espressione MMR è determinata

dall'assenza di colorazione IHC di una o più proteine nel nucleo delle cellule tumorali. I nuclei che mostrino una qualsiasi colorazione (>1%) detettabile sono considerati positivi

2) MSI test viene condotte confrontando la distribuzione di microsatelliti amplificati alla PCR tra il tumore ed il tessuto normale.

Il pannello di confronto raccomandato dal NCI comprende due sequenze ripetute di nucleotidi (BAT-25 e BAT-26) e 3 di didinucleotidi (D5S346, D2S123 and D17S250). C'è anche un kit disponibile commercialmente che consiste di 5 marker mononucleotidici. (BAT-25, BAT-26, MONO-27, NR-21 and NR-24)

Prgetto traslazionale (facoltativo)

Per valutare il fenotipo ultramutato sarà estratto il DNA dai campioni paraffinati e gli esoni 9 e 13 del gene POLE saranno sequenziati (Sanger sequencing).

In questo studio è anche incluso una valutazione non obbligatoria di altri biomarkers, sia su tessuto che su sangue, per valutarne il valore predittivo di risposta/resistenza alla terapia con avelumab.

La fattibilità di tale progetto è subordinata al recepimento di fondi da parte di istituzioni Italiane.

Il progetto include la valutazione di:

- livelli circolanti di PD-L1
- valutazione dell'espressione di citochine tramite lo studio di due pannelli:
 - Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-Plex Immunoassay: FGF basic, Eotaxin, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, IP-10, MCP-1 (MCAF), MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF-BB, RANTES, TNF- α , VEGF
 - Bio-Plex Pro Human Cytokine 21-Plex Immunoassay: IL-1 α , IL-2R, IL-3, IL-12p40, IL-16, IL-18, CCL27, CXCL1, CXCL9, CXCL12, HGF, IFN- α 2, LIF,

MCP-3, M-CSF, MIF, β -NGF, SCF,
SCGF- β , TNF- β , TRAIL

- Infiltrato tumorale di CD3, CD8 (immunoscore), PD1, FOXP3, GRZB, densità vascolare intratumorale (CD34) e densità linfovascolari (8 sezioni FFPE)
- valutazione espressione di MCT-4
- espressione di PTEN (4 sezioni FFPE)
- valutazione periferica dei **Treg** (CD3, CD4, CD8, CD25, CD39, CD45RA, CD45R0, CD62L, CD127, CD152-CTLA-4, CD184-CXCR4, CD278-ICOS, CD279-PD-1), **MDSC** (LIN-, CD11b, CD14, CD15, CD33, CD124-IL4-R α , CD184-CXCR4, CD279-PD1, HLA-DR)

Il tessuto (FFPE) tumorale sarà ottenuto allo screening sia per la caratterizzazione obbligatoria PD-L1 sia per il progetto facoltativo

Dei campioni di sangue (opzionali) saranno raccolti prima dell'inizio del trattamento al ciclo 1, alla fine del ciclo 6 e alla fine del trattamento. Questi includono: **1**) plasma (600 μ L) per i livelli circolanti di PDL1 **2**) sangue intero (7mL) per i pannelli di citochine panels.

Qualità della vita	I parametri della qualità della vita saranno misurati attraverso i questionari EORTC QLQ-30 e EORTC-QLQ-EN-34
PRO-CTCAE	Le tossicità sintomatiche riportate dai pazienti saranno raccolte con la versione italiana dei PRO-CTCAE
Analisi statistica	Tutte le analisi di efficacia saranno condotte seguendo il modello <i>intention-to-treat</i> . L'end-point primario dello studio è la PFS definita come il tempo intercorrente tra la randomizzazione e il primo evento tra: PD valutata perifericamente dall'investigatore (secondo i criteri RECIST 1.1) e la morte. Le pazienti perse al follow-up o vive e senza progressione al momento dell'analisi finale saranno censurate alla data dell'ultima rivalutazione di malattia conosciuta. La sopravvivenza globale (OS) è definita come il periodo intercorrente tra la randomizzazione e la morte della paziente, per qualsiasi causa. Le pazienti perse al follow-up o vive al momento dell'analisi finale saranno censurate all'ultima data in cui è noto essere vive.

Le curve di PFS e OS saranno calcolate con il metodo di Kaplan-Meier ed i bracci di trattamento saranno confrontati con un test log-rank stratificato. Il tasso di risposte obiettive sarà valutato in accordo con i criteri RECIST 1.1. La tossicità, graduata secondo i criteri CTCAE v 4.03, sarà analizzata confrontando i due bracci sia per tutti i gradi (grado 0-5) con un *rank test* lineare sia per quanto riguarda la tossicità severa (gradi 3-5) con il test esatto di Fisher. I dati di qualità di vita saranno analizzati secondo le specifiche istruzioni dei questionari utilizzati..

Pianificazione statistica

Questo studio è dimensionato per dimostrare l'ipotesi che avelumab aggiunto alla chemioterapia standard è in grado di prolungare la PFS dagli 8 mesi attesi con la chemioterapia da sola a 11.4 mesi. Questa differenza corrisponde ad un hazard ratio di PFS (HR) di 0.70, per valutare il quale, con una potenza del 90% ed un errore di tipo I di 0.2, sono necessari 90 eventi. Considerando un arruolamento di 5 pazienti/mese saranno arruolate 120 pazienti.
