

Subproject 22. Functional evaluation of autologous and allogeneic NK cells from patients with acute leukemia

Principal Investigator: *Belinda Pinto Simões*

Abstract

Adoptive immunotherapy with immune cells such as T lymphocytes and NK cells has been used for several years in combination with allogeneic bone marrow transplantation (BMT). To date, the most used approach is the donor lymphocytes infusion that is already well established for treatment of relapsed patients after BMT. Many tumors express antigens that can be targeted by immune approaches with both T lymphocytes and NK cells. The primary function of NK cells is the recognition and elimination of cells with decreased expression of the classic histocompatibility molecules and thereby escape the cytotoxic activity of CD8 + T cells. According to the theory of the "missing self", NK cells recognize cells that do not express the same classical histocompatibility molecules that they express and eliminate them. Various hematologic malignancies respond to BMT due to the KIR (Killer inhibitory receptor) genotype of the donor and the patient. It has been recently reported that patients with acute myeloid leukemia (AML) who received HSC graft from donors with the KIR2DS1 genotype showed a lower relapse rate after BMT. The adoptive transfer of NK cells has been described in small group of patients with encouraging results.

Goals

To evaluate the antitumor activity of autologous and allogeneic human NK cells in eliminating leukemic cells from patients with acute myeloid leukemia (AML) or acute lymphoblastic leukemia (ALL) in vitro, aiming at clinical application of autologous and allogeneic human NK cells in patients with AML and high-risk ALL (phase I / II safety and feasibility clinical trial).

Specific Goals

- 1. To isolate and characterize human NK cells from patients with acute leukemia (AML or ALL) and haploidentical relatives regarding the immunophenotype and KIR genotype;*
- 2. To isolate and freeze leukemic cells from patients with AML and ALL before the treatment;*

3. To evaluate functionally in vitro expanded human NK cells (Subproject "Expansion of immune competent cells") against allogeneic and autologous leukemic cells in in vitro cytotoxicity and NK cell degranulation assays;
4. To design a phase I / II clinical trial of adoptive transfer of autologous and allogeneic NK cells in high risk AML and ALL patients;
5. To recruit patients for clinical study.

Implementation schedule

Specific Goals	Semester											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1												
2												
3												
4												
5												

Researchers

Eduardo Magalhães Rego

Fabiola Attié de Castro

Kamilla Swiech Antonietto

Kelen Malmegrim de Farias

Maria Carolina de Oliveira Rodrigues

Maristela Delgado Orellana

References

Kolb HJ. Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes. *Blood*. 2008 Dec 1;112(12):4371-83.

Velardi A. Natural killer cell alloreactivity 10 years later. *Curr Opin Hematol*. 2012 Nov;19(6):421-6.

Moretta L, Pietra G, Montaldo E, Vacca P, Pende D, Falco M, Del Zotto G, Locatelli F, Moretta A, Mingari MC. Human NK cells: from surface receptors to the therapy of leukemias and solid tumors. *Front Immunol*. 2014 Mar 7;5:87

Davies JO, Stringaris K, Barrett JA, Rezvani K. Opportunities and limitations of natural killer cells as adoptive therapy for malignant disease. *Cytotherapy*. 2014 May 20.

Subprojeto 22. Avaliação funcional de células NK autólogas e alogênicas contra células de pacientes com leucemias agudas

Pesquisador Responsável: *Belinda Pinto Simões*

Introdução

A imunoterapia adotiva com células do sistema imune como linfócitos T e células NK vem sendo utilizada há vários anos em combinação com o transplante alogênico de medula óssea (TMO). A abordagem mais empregada até o momento é a infusão de linfócitos do doador já bem estabelecida para o tratamento de pacientes com recidivos pós-TMO. Vários tumores expressam antígenos que podem ser alvo de abordagem imunológica tanto por linfócitos T como por células NK. A função primordial das células NK é o reconhecimento e a eliminação de células que apresentam diminuição da expressão das moléculas clássicas de histocompatibilidade e, com isso, escapam da ação citotóxica de das células T CD8⁺. De acordo com a teoria do “*missing self*”, as células NK reconhecem as células que não expressam as mesmas moléculas clássicas de histocompatibilidade que ela expressa e as eliminam. Várias neoplasias hematológicas têm sua resposta ao TMO relacionado o genótipo *KIR* (*Killer inhibitory receptor*) do doador e do paciente. Recentemente foi descrito que pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA) que receberam um enxerto de CTHs de doadores com genótipo *KIR2DS1* apresentaram uma menor taxa de recidiva pós-TMO. A transferência adotiva de células NK já foi descrita em pequeno grupo de pacientes com resultados animadores.

Este projeto tem como objetivo avaliar a atividade antitumoral de células NK humanas autólogas e alogênicas em eliminar células leucêmicas de pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA) ou leucemia linfóide aguda (LLA) *in vitro*, visando a aplicação de células NK humanas autólogas e alogênicas expandidas em condições GMP (Subprojeto “Expansão de células imunocompetentes”) em pacientes com LMA e LLA de alto risco (estudo de fase I/II de viabilidade e segurança).

Metas

1. *Isolar e caracterizar células NK humanas de pacientes e familiares haploidênticos de pacientes com leucemias agudas (LMA ou LLA) quanto ao imunofenótipo e genótipo KIR;*
2. *Isolar e congelar células leucêmicas de pacientes com LMA e LLA pré- tratamento;*
3. *Avaliar funcionalmente células NK humanas expandidas in vitro (Subprojeto “Expansão de células imunocompetentes”) contra células leucêmicas autólogas e alogênicas em ensaios in vitro de citotoxicidade e degranulação de células NK;*

4. *Desenhar estudo clínico de fase I/II de transferência adotiva de células NK autólogas e alogênicas em pacientes com LLA e LMA de alto risco;*
5. *Recrutar pacientes para estudo clínico.*

Cronograma de execução referente a seis anos de projeto

Metas	Semestres											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1												
2												
3												
4												
5												

Pesquisadores

Eduardo Magalhães Rego

Fabiola Attié de Castro

Kamilla Swiech Antonietto

Kelen Malmegrim de Farias

Maria Carolina de Oliveira Rodrigues

Maristela Delgado Orellana

Referências

Kolb HJ. Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes. *Blood*. 2008 Dec 1;112(12):4371-83.

Velardi A. Natural killer cell alloreactivity 10 years later. *Curr Opin Hematol*. 2012 Nov;19(6):421-6.

Moretta L, Pietra G, Montaldo E, Vacca P, Pende D, Falco M, Del Zotto G, Locatelli F, Moretta A, Mingari MC. Human NK cells: from surface receptors to the therapy of leukemias and solid tumors. *Front Immunol*. 2014 Mar 7;5:87

Davies JO, Stringaris K, Barrett JA, Rezvani K. Opportunities and limitations of natural killer cells as adoptive therapy for malignant disease. *Cytotherapy*. 2014 May 20.