

Subproject 21 Development of leukemia and lymphoma humanized murine models for safety and therapeutic efficacy evaluation of in vitro expanded human NK cells.

Principal Investigator: *Dimas Tadeu Covas*

Abstract

In the last few years, based on the technological advances in cell culture and molecular biology, cellular immunotherapy or adoptive transfer of immune competent cells proved to be an important therapeutic approach for treatment of many neoplastic diseases (reviewed by Restifo et al, 2012; Shaffer et al. 2013). Various immune cell subsets, especially T lymphocytes (total or tumor infiltrating lymphocytes), dendritic cells, Natural Killer (NK) cells, and engineered T-cells have been explored in cancer immunotherapeutic approaches (Restifo et al, 2012; Wood et al, 2010; Humphries, 2013).

Adoptive transfer of natural killer (NK) cells, mainly allogeneic cells, as immunotherapy against cancer is an important antitumor therapeutic modality to be further exploited (reviewed by Vivier et al, 2012). Several recent clinical trials of adoptive transfer of NK in patients with acute myeloid leukemia, myeloma, breast carcinoma, ovarian carcinoma, renal carcinoma, hepatic carcinoma and melanoma, achieved significant results, such as increased survival and partial or complete remission (reviewed in Davies et al, 2014). However, despite recent advances in the ability to in vitro expanded NK cells, most suitable culture conditions has yet to be explored (reviewed in Lapteva et al, 2014).

Goals

To evaluate the safety and therapeutic efficacy of expanded in vitro expanded human NK cells infusions in humanized murine models of B-cell lymphoma and acute myeloid leukemia, aiming at future clinical applications in patients with hematologic malignancies and solid tumors.

Specific goals

1. *To develop and characterize humanized models of B-cell lymphoma in immune deficient mice NSG (NOD scid gamma);*
2. *To develop and characterize humanized models of acute myeloid leukemia in NSG immune deficient mice (NOD scid gamma);*

3. *To evaluate functionally the human NK cells, in vitro expanded under conditions compatible with GMP standards, in cytotoxicity and NK cell degranulation in vitro assays;*
4. *To standardize the amount of cells, administration route, number of infusions of NK cells to be used;*
5. *To evaluate the safety and therapeutic efficacy of in vitro expanded NK cells infusions in humanized models of acute myeloid leukemia in NSG immune deficient mice (NOD scid gamma);*
6. *To assess the safety and therapeutic efficacy of in vitro expanded NK cells infusions humanized model of B-cell lymphoma in immune deficient mice NSG (NOD scid gamma);*
7. *To develop and characterize other humanized mouse models of neoplastic diseases for evaluation of safety and therapeutic efficacy of other immune competent cell types to be developed in the project scope.*

Implementation schedule

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

Researchers

Belinda Pinto Simões
 Fabíola Attié de Castro
 Kelen Malmegrim de Farias

Cleide Lúcia Araújo Silva
 Kamilla Swiech Antonietto
 Maria Carolina de Oliveira Rodrigues

Collaborators

Cristina Ribeiro de Barros Cardoso

References

Ito R, Takahashi T, Katano I, Ito M. Current advances in humanized mouse models. Cellular & Molecular Immunology (2012) 9, 208–214

Lapteva N, Szmania SM, Rhee Fv, Rooney. *Crit Rev Oncogenesis*, 19 (1-2):121–132, 2014.

Restifo NP, Dudley ME, Rosenberg SA. Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response. *Nat Rev Immunol*. 2012 May 25;12(6):417-30.

Shaffer D, Cruz CRY, Rooney CM. Adoptive cell transfer. In: *Cancer immunotherapy: Paradigms, Practice and Promise*, Ed. Curiel TJ. Springer, p. 61-70 2013.

Vivier E, Ugolini S, Blaise D, Chabannon C, Brossay L. Targeting natural killer cells and natural killer T cells in cancer. *Nat Rev Immunol*. 2012 Mar 22;12(4):269-81.

Subprojeto 21 Desenvolvimento modelos murinos humanizados de leucemias e linfomas para avaliação de segurança e eficácia terapêutica de células NK humanas expandidas in vitro

Pesquisador Responsável: *Dimas Tadeu Covas*

Introdução

Nos últimos anos, com os avanços tecnológicos na área de cultivo celular e biologia molecular, a imunoterapia celular ou transferência adotiva de células imunocompetentes revelou-se como abordagem terapêutica importante para o tratamento de diversas doenças neoplásicas (revisado por Restifo et al, 2012; Shaffer et al., 2013). Várias subpopulações celulares do sistema imune, principalmente linfócitos T (totais ou infiltrantes do tumor), células dendríticas, células *Natural Killer* (NK), células T modificadas ou engenheiradas geneticamente têm sido exploradas em abordagem imunoterapêuticas contra o câncer (Restifo et al, 2012; Wood et al, 2010; Humphries, 2013).

A transferência adotiva de células *natural killer* (NK), principalmente alogênicas, como imunoterapia contra o câncer constitui uma importante modalidade terapêutica antitumoral a ser melhor explorada (revisado por Vivier *et al*, 2012). Vários ensaios clínicos recentes de transferência adotiva de NK em pacientes com leucemia mieloide aguda, mieloma, carcinoma de mama, carcinoma de ovário, carcinoma renal, carcinoma hepático e melanoma, obtiveram resultados significativos, como o aumento de sobrevida e remissão parcial ou completa da doença (revisado em Davies et al, 2014). No entanto, apesar de avanços recentes na habilidade de expandir células NK in vitro, condições de cultivo mais adequadas tem que exploradas (revisado em Lapteva et al, 2014).

Objetivo Geral

Este subprojeto tem como objetivo geral avaliar a segurança e eficácia terapêutica da infusão de células NK humanas, expandidas in vitro em condições compatíveis com as normas GMP, em modelos murinos humanizados de linfoma de células B e leucemia mieloide aguda, respectivamente, visando futuras aplicações clínicas em pacientes portadores dessas neoplasias hematológicas e tumores sólidos.

Metas:

1. *Desenvolver e caracterizar modelos murino humanizado de linfoma de células B em camundongos imunodeficientes NSG (NOD scid gamma);*

2. *Desenvolver e caracterizar modelos murino humanizado de leucemia mieloide aguda em camundongos imunodeficientes NSG (NOD scid gamma);*
3. *Avaliar funcionalmente células NK humanas expandidas in vitro em condições compatíveis com as normas GMP, em ensaios in vitro de citotoxicidade e degranulação de células NK;*
4. *Padronizar a quantidade de células, via de administração, número de infusões de células NK a serem usadas;*
5. *Avaliar a segurança e eficácia terapêutica da infusão de células NK expandidas in vitro modelos murino humanizado de leucemia mieloide aguda em camundongos imunodeficientes NSG (NOD scid gamma);*
6. *Avaliar a segurança e eficácia terapêutica da infusão de células NK expandidas in vitro modelo murino humanizado de linfoma de células B em camundongos imunodeficientes NSG (NOD scid gamma);*
7. *Desenvolver e caracterizar outros modelos murinos humanizados de doenças neoplásicas para avaliação de segurança e eficácia terapêutica de outros tipos de células imunocompetentes a serem desenvolvidas no escopo do projeto.*

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						■	■	■				
6							■	■	■			
7								■	■	■	■	■

Pesquisadores:

Belinda Pinto Simões
 Fabíola Attié de Castro
 Kelen Malmegrim de Farias

Cleide Lúcia Araújo Silva
 Kamilla Swiech Antonietto
 Maria Carolina de Oliveira Rodrigues

Pesquisadores colaboradores:

Cristina Ribeiro de Barros Cardoso

Referências

Ito R, Takahashi T, Katano I, Ito M. Current advances in humanized mouse models. Cellular & Molecular Immunology (2012) 9, 208–214

Lapteva N, Szmania SM, Rhee Fv, Rooney. Crit Rev Oncogenesis, 19 (1-2):121–132, 2014.

Restifo NP, Dudley ME, Rosenberg SA. Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response. *Nat Rev Immunol*. 2012 May 25;12(6):417-30.

Shaffer D, Cruz CRY, Rooney CM. Adoptive cell transfer. In: *Cancer immunotherapy: Paradigms, Practice and Promise*, Ed. Curiel TJ. Springer, p. 61-70 2013.

Vivier E, Ugolini S, Blaise D, Chabannon C, Brossay L. Targeting natural killer cells and natural killer T cells in cancer. *Nat Rev Immunol*. 2012 Mar 22;12(4):269-81.