



**Universiteit
Leiden**
The Netherlands

Designing T-cells with desired T-cell receptor make-up for immunotherapy

Loenen, M.M. van

Citation

Loenen, M. M. van. (2011, April 20). *Designing T-cells with desired T-cell receptor make-up for immunotherapy*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/17581>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/17581>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

ACHTERGROND

Hematopoïese en het ontstaan van leukemie

Bloed bestaat uit verschillende celtypen. Rode bloedcellen of erythrocyten zijn verantwoordelijk voor het zuurstoftransport, bloedplaatjes of thrombocyten zijn betrokken bij de stolling en witte bloedcellen of leukocyten zijn belangrijk voor afweer tegen verscheidene pathogenen, zoals virussen en bacteriën. Omdat deze verschillende cellen een beperkte levensduur hebben, vindt in het lichaam een continue aanmaak plaats door hematopoïetische stamcellen die zich in het beenmerg bevinden. Dit proces wordt hematopoïese genoemd. Soms treedt er een ontsporing op in de hematopoïese en ontstaan er kwaadaardige (maligne) cellen die ongecontroleerd doorgroeien zonder zich te ontwikkelen. Leukemie is een vorm van kanker die gekenmerkt wordt door verdringing van het normale hematopoïetisch systeem uit het beenmerg door de maligne cellen, en het accumuleren van grote aantallen leukemiecellen in het bloed.

Stamceltransplantatie

Er bestaan verschillende typen leukemie, die verschillend behandeld worden. Een aantal typen leukemie wordt behandeld met stamceltransplantatie. Conventionele myeloablatieve

stamceltransplantatie bestaat uit preconditionering met chemo- en radiotherapie met als doel om zoveel mogelijk leukemiecellen te vernietigen, gevolgd door transplantatie van donor hematopoïetische stamcellen. Behandeling met chemo- en radiotherapie resulteert echter ook in vernietiging van gezonde hematopoïetische stamcellen, waardoor alle verschillende hematopoïetische cellen niet meer gevormd kunnen worden. Om te voorkomen dat de patiënt overlijdt, worden gezonde stamcellen (graft) getransplanteerd om de normale hematopoïese te herstellen. Deze kunnen afkomstig zijn van de patiënt zelf (autoloog) of van een gezonde donor (allogeen). Na toediening van het stamceltransplantaat aan de patiënt migreren de stamcellen naar het beenmerg van de patiënt en ontwikkelt zich een nieuw hematopoïetisch systeem.

Immuunreacties na stamceltransplantatie

Transplantatie van donorstamcellen kan resulteren in verschillende immuunreacties tussen cellen van de patiënt en donor. Als nog aanwezige patiënt-T-cellen een sterke immuunreactie tegen donorstamcellen ontwikkelen en die vernietigen, is er sprake van afstoting, ook wel host versus graft (HvG) reactie genoemd. Dit is een ernstige complicatie, omdat er dan geen

normale hematopoïese meer plaatsvindt. Daarnaast kunnen er immunoreacties plaatsvinden als donor-T-cellen aanwezig in het donorstamceltransplantaat patiëntweefsels herkennen, ook wel transplantaat versus ontvanger ziekte of Graft versus Host Disease (GvHD) genoemd. Deze immunoreacties zijn meestal gericht tegen de huid, de longen, lever en darmen, en kunnen levensbedreigende vormen aannemen. Om deze ernstige complicatie van allogene stamceltransplantatie (allo-SCT) te voorkomen, kunnen donor-T-cellen selectief uit het transplantaat verwijderd worden. Verwijdering van donor-T-cellen uit het transplantaat resulteert echter in een verhoogde kans op terugkeer van de leukemie. Donor-T-cellen zijn blijikbaar in staat om leukemiecellen te vernietigen die bestraling en chemotherapie hebben overleefd. Wanneer donor-T-cellen selectief reageren tegen resterende hematopoïetische cellen van de patiënt, waaronder nog aanwezige leukemiecellen, wordt er gesproken van Graft versus Leukemia (GvL) effect. Omdat het stamceltransplantaat van de donor het hematopoïetisch systeem van de patiënt vervangt, leidt deze reactiviteit niet tot problemen, maar is juist curatief. GvL is belangrijk gebleken om terugkeer van de leukemie tegen te gaan.

Immunotherapie na stamceltransplantatie

De erkenning dat donor-T-cellen in staat zijn om specifiek de maligne cellen van de patiënt op te ruimen, leidde tot de ontwikkeling van nieuwe stamceltransplantatiestrategieën. Patiënten worden getransplanteerd met donorstamceltransplantaat waar selectief de donor-T-cellen uit verwijderd zijn. Na 6 maanden worden ongeselecteerde donorlymfocyten als immunotherapie

gegeven. Deze donorlymfocyteninfusies (DLI) induceren bij veel patiënten remissie van de ziekte. Helaas resulteert deze therapie niet alleen in een GvL effect, maar ook in gevaarlijke GvHD reacties. Uit patiënten die wel de curatieve GvL maar geen schadelijke GvHD reacties ontwikkelden, zijn donor-T-cellen geïsoleerd en gekarakteriseerd. Een aantal van deze donor-T-cellen herkenden selectief patienthematopoïetische cellen, waaronder ook de leukemiecellen, zonder dat ze het gezonde niet-hematopoïetische weefsel van de patiënt herkennen. Toediening van T-cellen met deze reactiviteit zou kunnen resulteren in selectieve herkenning van de leukemie zonder de levensbedreigende GvHD.

T-cellen en de T-celreceptor

T-cellen zijn afweercellen die belangrijk zijn in bestrijding tegen pathogenen, zoals bacteriën en virussen, en tegen lichaamsvreemde of ontspoorde cellen, zoals kankercellen. T-cellen moeten in staat zijn te detecteren of een cel gezond is, geïnfecteerd is met een pathogeen of getransformeerd is tot kankercel. T-cellen detecteren dit door middel van hun T-celreceptor (TCR). De TCR bestaat uit een TCR α - en TCR β -keten. Door middel van zijn TCR kan een T-cel kleine fragmenten van eiwitten, peptides genaamd, herkennen wanneer zij gepresenteerd worden in HLA-moleculen. Op alle cellen in het lichaam komen HLA-moleculen tot expressie. HLA-klasse-I-moleculen presenteren peptides afkomstig van eiwit dat een cel zelf maakt en HLA-klasse-II-moleculen presenteren voornamelijk peptides afkomstig van eiwit dat cellen op kunnen nemen uit hun omgeving.

Binnen het T-celcompartiment wordt onderscheid gemaakt tussen T-cellen die de CD4 co-receptor tot expressie brengen en T-cellen die de CD8 co-receptor tot expressie brengen. CD4+ helper T-cellen kunnen peptides herkennen in HLA-klasse-II-moleculen. Na herkenning van geïnfecteerde of getransformeerde cellen is hun voornaamste rol het produceren van cytokines, die effectorfuncties van CD8+ cytotoxische T-cellen en de aanmaak van antilichamen door B-cellen bevorderen. CD8+ cytotoxische T-cellen kunnen peptides herkennen in HLA-klasse-I-moleculen. Herkenning resulteert in directe lysis van geïnfecteerde of getransformeerde cellen door productie van perforine en granzyme B.

Specificiteit van T-cellen; minor-antigenen

Er is een correlatie tussen het optreden van GvHD en de mate van HLA-verschillen tussen donor en patiënt. De voorkeur gaat daarom uit naar een donor die dezelfde HLA-moleculen heeft als de patiënt. In sommige gevallen van transplantaties met een HLA-identieke donor treedt er nog steeds GvHD bij de patiënt op. In dit geval komt de reactiviteit door donor-T-cellen die minor-antigenen herkennen. In het DNA bestaan er tussen individuen kleine verschillen, ook wel single nucleotide polymorphisms (SNPs) genoemd. Deze kleine verschillen in DNA zorgen ervoor dat op het niveau van aminozuren veranderingen optreden, die soms kunnen resulteren in een verschillend eiwit. Als door deze kleine verschillen patiëntcellen andere peptides presenteren als donorcellen, kan er een immunoreactie ontstaan. Op het moment dat deze verschillende peptides in staat zijn om

een immunoreactie bij donor-T-cellen op te wekken, worden ze minor-antigenen genoemd. Als minor-antigenen op verscheidene patiëntcellen door het hele lichaam tot expressie komen, kan dit leiden tot GvHD. Er zijn echter ook minor-antigenen beschreven die alleen tot expressie komen op cellen van het hematopoïetisch systeem, zoals HA-1 en HA-2. Donor-T-cellen in staat om HA-1 en HA-2 gepresenteerd in HLA-A*0201 te herkennen, vernietigden wel de patiëntbloedcellen en leukemiecellen, maar niet de andere gezonde patiëntcellen of donorbloedcellen. In verschillende patiënten resulteerde deze HA-1 en HA-2 donor-T-celrespons in GvL zonder GvHD, en sommige van deze patiënten zijn nog steeds ziektevrij.

DIT PROEFSCHRIFT

Donor-T-celresponsen spelen een belangrijke rol in zowel het gewenste GvL effect, als de levensbedreigende GvHD. Om op een snelle manier donor-T-cellen te genereren waarvan bekend is dat ze alleen de patiëntbloedcellen en leukemiecellen herkennen, maar geen ander gezond weefsel, kan gebruik worden gemaakt van TCR-gentherapie. Omdat de TCR de specificiteit van een T-cel bepaalt, resulteert introductie van de HA-1-TCR of HA-2-TCR in generatie van HA-1- of HA-2-specifieke T-cellen. Omdat bekend is dat immunotherapie met ongeselecteerde donorlymfocyten GvHD kan induceren, zou het introduceren van de HA-1- of HA-2-TCR in een populatie van diverse verschillende donor-T-cellen nog steeds GvHD kunnen

veroorzaken. Daarom heeft het de voorkeur om deze minor-antigenspecifieke TCR-en over te zetten in een andere goed gekarakteriseerde T-cel populatie. Een aantrekkelijk alternatief om donor T-cellen te genereren met verwachte selectieve anti-leukemie-reactiviteit, is HA-1-TCR of HA-2-TCR gentransfer in virusspecifieke T-cellen, zoals cytomegalovirus (CMV)- of Epstein-Barr-virus (EBV)-specifieke T-cellen.

Er zijn nog wel een aantal verbeterpunten. Introductie van een TCR in verschillende CMV- of EBV-specifieke T-cellen leidt niet alleen tot expressie van de endogene en geïntroduceerde TCR op het celoppervlak, maar ook tot expressie van TCR-dimeren. TCR-dimeren zijn combinaties van de geïntroduceerde TCR-ketens gepaard met de endogene TCR α -, of β -ketens. Introductie van één TCR in één T-cel kan dus leiden tot expressie van vier verschillende TCR $\alpha\beta$ -complexen op het celoppervlak, en leidt dus niet altijd tot eenzelfde TCR-opmaak op het celoppervlak. Er is bewezen dat er competitie plaatsvindt voor expressie op het celoppervlak, niet alleen tussen de geïntroduceerde TCR en de endogene virusspecifieke TCR, maar ook tussen TCR-dimeren.

Het onderzoek, beschreven in dit proefschrift, was erop gericht uit te zoeken wat de consequenties van verschil in TCR-opmaak waren, en of er oplossingen gevonden konden worden.

Effect van regulatie op de expressie van de geïntroduceerde TCR

TCR-en die door middel van retrovirale gentransfer in donor-T-cellen geïntroduceerd worden, worden gereguleerd door virale promotoren die de expressie van de TCR-en bepalen. Het

voordeel hiervan is dat deze regulatie tot een hoge expressie van de geïntroduceerde TCR leidt. Het nadeel hiervan is dat virale promotoren anders werken dan de promotoren die de expressie van de eigen TCR reguleren. Normaliter resulteert herkenning van een specifiek peptide-HLA-complex door een TCR tot internalisatie van de TCR-complexen. Dit resulteert in beëindiging van alle TCR-HLA-interacties tussen T-cel en de herkende cel. T-cellen zijn dan tijdelijk niet in staat om op nieuwe stimuli te reageren. Zij ondergaan een soort van "time-out", ook wel refractaire periode genoemd, die ze in staat stelt om verschillend DNA af te schrijven, zodat ze kunnen delen en allerlei verschillende cytokines produceren. Deze refractaire periode zou T-cellen beschermen tegen activatie geïnduceerde celdood (AICD).

In hoofdstuk 2 wordt onderzocht of specifieke stimulatie van zowel de geïntroduceerde als de eigen endogene TCR in TCR-gemodificeerde T-cellen leidt tot zo'n refractaire periode. TCR-gemodificeerde T-cellen lieten na specifieke stimulatie van zowel de endogene virusspecifieke TCR als de geïntroduceerde minor-antigenspecifieke TCR vergelijkbare internalisatie van TCR-complexen zien. Stimulatie via één van beide TCR-en resulteerde in internalisatie van beide TCR-en, maar de geïntroduceerde TCR werd telkens veel sneller weer tot expressie gebracht op het celoppervlak. Ondanks deze snelle herexpressie ondergingen TCR-gemodificeerde T-cellen toch een normale refractaire periode, en bleven ze ongevoelig voor stimulaties via één van beide TCR-en. Een mogelijke verklaring voor het feit dat de snelle herexpressie van de geïntroduceerde TCR niet leidt tot de mogelijkheid om de TCR-gemodificeerde T-cel weer

te kunnen activeren via de geïntroduceerde TCR, is de gecoördineerde internalisatie van de co-receptor CD8. We concluderen dat, ondanks de niet fysiologische regulatie via de virale promotor die tot een snelle herexpressie van de geïntroduceerde TCR leidt, T-cellen zich toch fysiologisch gedragen en nog niet in staat zijn om geactiveerd te worden via hun TCR. Het lijkt erop dat T-cellen verschillende manieren gebruiken om hun refractaire periode na stimulatie veilig te stellen, en daardoor hoeven TCR-gemodificeerde T-cellen niet te worden geacht gevoeliger te zijn voor AICD door verlies van hun refractaire periode.

Persisterende expressie van de geïntroduceerde TCR

Introductie van TCR-en in CMV- of EBV-specifieke T-cellen is niet alleen aantrekkelijk omdat deze T-cellen geen GvHD veroorzaken, maar ook omdat deze T-cellen in staat zijn om lange tijd aanwezig te blijven. Op die manier zou ook de anti-leukemiereactiviteit via de geïntroduceerde TCR voor lange tijd aanwezig blijven. CMV- en EBV-specifieke T-cellen blijven waarschijnlijk zo lang aanwezig in het bloed, omdat ze af en toe weer hun functie moeten uitoefenen om het virus onder controle te houden. Op die momenten worden ze via hun TCR gestimuleerd met specifieke virale peptides. Als deze herhaaldelijke stimulaties via de endogene virusspecifieke TCR zou resulteren in uitgroei van TCR-gemodificeerde T-cellen die voornamelijk de endogene TCR tot expressie brengen, maar niet meer de geïntroduceerde TCR, kan dit tot verlies van de anti-leukemiereactiviteit leiden. Om te testen of dit optreedt, hebben we van HA-2-TCR-gemodificeerde

CMV-specifieke T-cellen óf de endogene CMV-specifieke TCR óf de geïntroduceerde HA-2-TCR herhaaldelijk gestimuleerd.

In hoofdstuk 3 beschrijven we hoe in eerste instantie deze herhaaldelijke stimulaties van óf de endogene CMV-TCR óf de geïntroduceerde HA-2-TCR leken te resulteren in specifieke uitgroei van TCR-gemodificeerde T-cellen die voornamelijk de CMV-TCR of de HA-2-TCR, respectievelijk, tot expressie brachten. Deze specifieke TCR-opmaak waarbij óf de endogene óf de geïntroduceerde TCR domineerde op de T-cellen, kon echter ongedaan gemaakt worden door éénmaal de andere TCR te stimuleren. In aanvulling op deze experimenten werden de TCR-gemodificeerde T-cellen gesorteerd op dominante expressie van óf de endogene CMV-TCR óf de geïntroduceerde TCR. Direct na het sorteren waren deze T-celpopulaties wel in staat om via beide TCR-en peptidebeladen targetcellen te herkennen. Echter, de TCR-gemodificeerde T-cellen konden alleen via de TCR op basis van welke expressie ze gesorteerd waren ook sterke interacties aangaan met niet-peptidebeladen targetcellen die wel óf CMV-geïnficeerd waren, óf HA-2 positief. Ook deze T-celpopulaties waren in staat om na een additionele stimulatie hun TCR-opmaak weer te veranderen, en beide TCR-en weer goed tot expressie te brengen op het celoppervlak. Wanneer de TCR-opmaak was veranderd, waren ook de sterke interacties via beide TCR-en hersteld. Uit deze experimenten concluderen we dat TCR-gemodificeerde virus-specifieke T-cellen goed te gebruiken zijn voor genterapie, omdat de kans op selectieve uitgroei van virus-specifieke T-cellen, die niet meer de

geïntroduceerde TCR tot expressie brengen of kunnen brengen, heel miniem is.

Vóorkomen en voorkómen van TCR-dimeren met mogelijk gevaarlijke reactiviteit

Introductie van TCR-en in T-cellen resulteert in de expressie van vier verschillende TCR-complexen op het oppervlak. Niet alleen komen de geïntroduceerde TCR en de endogene TCR tot expressie, maar ook 2 TCR-dimeercomplexen bestaande uit de geïntroduceerde TCR α -, en β -keten die gepaard zijn met de endogene TCR-ketens. De specificiteit van de geïntroduceerde TCR en de endogene TCR is bekend, maar van de TCR-dimeren is onbekend of en wat voor specificiteit ze hebben. Daarom kan niet uitgesloten worden dat ze potentieel een gevaarlijke specificiteit hebben die mogelijk in GvHD kan resulteren.

In hoofdstuk 4 hebben we onderzocht of en hoe vaak TCR gentransfer resulteert in vorming van TCR-dimeren met een gevaarlijke nieuwe specificiteit. Om dit te onderzoeken zijn zes verschillende virusspecifieke T-cellen uit diverse gezonde individuen getransduceerd met zeven goed gekarakteriseerde TCR-en. De resultaten laten zien dat zowel introductie van complete TCR-en, als transductie van enkel TCR α -, of β -ketens leidde tot nieuwe specificiteiten, die niet toegewezen konden worden aan de endogene TCR of de geïntroduceerde TCR. Voornamelijk de observatie dat enkel transductie van een TCR α -, of β -keten al resulteerde in nieuwe specificiteiten, wijst erop dat deze veroorzaakt werden door TCR-dimeren. De nieuwe specificiteiten konden gericht zijn tegen HLA-klasse-I-moleculen, maar ook

HLA-klasse-II-moleculen, en resulteerde in zowel alloreactieve als autoreactieve T-cellen. Door cysteïnes aan te brengen in de geïntroduceerde TCR, werd een extra zwavelbrug gecreëerd. Dit resulteerde in selectieve paring van beide geïntroduceerde TCR ketens, zodat de neoreactiviteit significant verminderd werd. We concluderen dat TCR gentransfer regelmatig resulteert in vorming van TCR-dimeren met potentieel gevaarlijke neoreactiviteit, omdat dit fenomeen in alle virusspecifieke T-cellijnen die we hebben getest optrad na introductie van verschillende TCR α -, of β -ketens. We pleiten ervoor om het risico op ontstaan van potentieel gevaarlijke TCR-dimeren te verkleinen door selectieve paring te bevorderen van de geïntroduceerde TCR-ketens, en T-celpopulaties te transduceren met een geresliceerd TCR-gebruik.

Verbeterde expressie en functionaliteit van codon geoptimaliseerde en cysteïne gemodificeerde HA-1-TCR-en

TCR-en gericht tegen minor-antigen HA-1 zijn aantrekkelijk voor TCR gentransfer om patiënten met hematologische maligniteiten te behandelen vanwege de exclusieve expressie van HA-1 op bloedcellen. Voor sterke reactiviteit tegen de leukemiecellen is een goede expressie van de HA-1-TCR op het celoppervlak van de donor T-cel van het grootste belang. Helaas hebben we in voorgaande studies al gezien dat de HA-1-TCR laag tot expressie komt op het celoppervlak na TCR gentransfer.

In hoofdstuk 5 werd getracht de oorzaak van deze lage expressie te achterhalen, en werden verschillende strategieën bestudeerd om de HA-1-TCR-expressie te verbeteren na TCR

gentransfer. In dit hoofdstuk laten we zien dat de HA-1-TCR-expressie al laag is op de oorspronkelijke HA-1-specifieke T-celklonen uit de patiënt, en dus niet alleen laag is na TCR gentransfer. Verder tonen we aan dat de lage HA-1-TCR-expressie na TCR gentransfer niet veroorzaakt wordt door inefficiënte paring van de HA-1-TCR α - en β -ketens onderling, maar dat vooral lage expressie van de HA-1-TCR β -keten een limiterende factor is. Van de verschillende strategieën die bestudeerd zijn, werd de meest verbeterde HA-1-TCR-expressie verkregen door het aanbrengen van een extra zwavelbrug in de HA-1-TCR-ketens te combineren met codon optimalisatie van de HA-1-TCR-ketens. Deze aanpassing van de HA-1-TCR leidde zelfs tot een hoge expressie van de HA-1-TCR in virusspecifieke T-cellen die daarvoor predominant hun endogene TCR tot expressie brachten op het celoppervlak na TCR gentransfer. Door de hoge HA-1-TCR-expressie konden TCR-gemodificeerde virusspecifieke T-cellen ook targetcellen herkennen die niet met HA-1-peptide beladen waren, maar van zichzelf HA-1-positief waren, en dit duidt op een sterke interactie tussen de T-cel en de targetcel.

Op basis van deze resultaten is een virus geconstrueerd dat voor klinische toepassing bruikbaar is. In de al in klinische studies toegepaste virale MP71 vector zijn de codon geoptimaliseerde en cysteïne gemodificeerde HA-1-TCR β - en α -keten verbonden met een T2A sequentie ingebracht. Transfer via deze vector van de HA-1-TCR leidde zowel in virusspecifieke T-cellen met een zwak competiterend en sterk competiterend fenotype tot sterke reactiviteit tegen verschillende HA-1-positieve leukemiecellen.

Op basis van uitgebreid onderzoek, mede beschreven in dit proefschrift, zal een klinische studie worden gestart. Patiënten met hematologische maligniteiten na allo-SCT zullen behandeld worden met virusspecifieke donor-T-cellen getransduceerd met de MP71 vector coderend voor de geoptimaliseerde HA-1-TCR.

KLINISCHE STUDIE

Immunotherapie voor patiënten na allo-SCT met donor T-cellen met anti-leukemiespecificiteit zou kunnen resulteren in exclusief GvL zonder GvHD. Echter, het is niet altijd mogelijk om uit donormateriaal T-cellen met een duidelijke en exclusieve anti-leukemiereactiviteit te induceren.

Door TCR gentransfer van minor-antigenspecifieke TCR-en kan in een korte kweekperiode een T-celproduct gegenereerd worden met een selectieve anti-leukemiereactiviteit. Om te voorkomen dat de T-cellen die getransduceerd worden alsnog zelf in staat zijn om GvHD te veroorzaken, gaat de voorkeur uit naar virusspecifieke T-cellen als ontvanger cellen. Door CMV- en EBV-specifieke T-cellen te transduceren, wordt gebruik gemaakt van de capaciteit van deze cellen om lange tijd aanwezig te blijven in het lichaam, en op die manier een langdurige anti-leukemiereactiviteit te garanderen.

Op basis van uitgebreid onderzoek, mede beschreven in dit proefschrift, zal binnenkort gestart worden met een klinische studie waarin patiënten die HLA-A*0201 en HA-1 positief

zijn, behandeld kunnen worden met HA-1-TCR-gemodificeerde virusspecifieke donor-T-cellen. Een voorwaarde is wel dat de stamceldonor HA-1 negatief is, omdat de T-cellen anders in staat zijn om zichzelf en het donortransplantaat te herkennen.

Er zullen twee groepen patiënten in aanmerking komen voor de behandeling met allo-SCT gevolgd door immunotherapie met HA-1-TCR getransduceerde virusspecifieke T-cellen. De eerste patiëntengroep die in aanmerking komt voor behandeling, zijn HLA-A*0201+ en HA-1+ patiënten met refractaire leukemieën die normaliter niet in aanmerking komen voor allo-SCT. Omdat hun leukemie na bestraling en chemotherapie niet voldoende vernietigd is, is de verwachting dat, indien deze patiënten wel getransplanteerd worden, de leukemie binnen 6 maanden weer in grote hoeveelheden in het bloed aanwezig is. Door de hoge kans op GvHD kan dan nog geen DLI gegeven worden. Omdat het HA-1-TCR-gemodificeerde virusspecifieke T-celproduct ontworpen is om geen GvHD te induceren, maar wel hoge anti-leukemische reactiviteit te bezitten, kan in deze patiënten veel vroeger na allo-SCT deze immunotherapie toegediend worden.

De tweede te includeren patiëntengroep bestaat uit HLA-A*0201+ en HA-1+ patiënten met een recidief hematologische maligniteit, die niet in aanmerking komen voor DLI door een verhoogde kans op GvHD, of omdat ze niet gereageerd hebben op DLI. Voorwaarde voor deze groep patiënten is dat ze getransplanteerd zijn met een HA-1 negatieve donor, en dat er genoeg donormateriaal ingevroren is om virus-specifieke T-cellen te kunnen isoleren.

Indien deze nieuwe behandeling bij beide groepen leidt tot selectieve anti-leukemiereacties zonder GvHD in patiënten die geen andere behandelopties meer hebben, kan de behandeling ook een goed alternatief voor DLI zijn in patiënten na allo-SCT met een recidief. Verder kan bij bewezen effectiviteit de therapie uitgebreid worden door andere TCR-en te includeren. Voor deze eerste studie is gekozen voor de HA-1-TCR, omdat over dit minor-antigen en deze TCR veel bekend is. Op dit moment is de voorwaarde dat patiënten zowel HLA-A*0201 en HA-1 positief moeten zijn, en de donor HA-1 negatief, beperkend voor toepassing in alle patiënt-donor combinaties. Deze combinatie zal namelijk in ongeveer 15% van de patiënten voorkomen. Verscheidene andere TCR-en zijn nu in ons laboratorium uitgebreid gekarakteriseerd, en kunnen bij slagen van deze eerste klinische studie mogelijk ook geïmplementeerd worden.