

28821

CÉLULAS NATURAL KILLER PARA TRATAMENTO DE CÂNCER DE CÉREBRO

Álvaro Macedo Laureano, Juliane Humphries (MD Anderson Cancer Center - EUA), William Brugmann (MD Anderson Cancer Center - EUA), Dean Anthony Lee (MD Anderson Cancer Center - EUA), Laurence James Neil Cooper (MD Anderson Cancer Center - EUA), Vidya Gopalakrishnan (MD Anderson Cancer Center - EUA). **Orientador:** Lucia Mariano da Rocha Silla

Intrudução: Quimioterapia, cirurgia e radioterapia evoluíram nos últimos anos, melhorando a sobrevivência de pacientes com meduloblastoma, o mais comum dos tumores pediátricos do sistema nervoso central. No entanto, essas terapias não têm sido efetivas no tratamento de grande parte das recidivas, sendo necessárias novas terapias. Nesse estudo avaliamos o potencial das células Natural Killer (NK) contra os tumores neurais meduloblastoma e tumor teratóide rabdoide atípico (ATRT). Utilizando uma plataforma tecnológica adaptada para aplicação em humanos, demonstramos uma rápida expansão *ex vivo* de células NK de grau clínico, capazes de lisar esses tumores *in vitro* e controlar seu crescimento *in vivo*. **Materiais/Métodos:** Células K562, modificadas geneticamente para agir como células apresentadoras de antígeno artificiais (aAPC), expressando CD86, 4-1BBL e IL-21 ligada à membrana. Células mononucleares de sangue periférico (PBMC) de 5 doadores foram co-cultivadas com aAPC γ -irradiadas, em presença de IL-2 por 21 dias. Células CD3+ foram removidas das culturas no dia 7, utilizando colunas imunomagnéticas, e a pureza das NK avaliada por citometria de fluxo. O potencial lítico das células expandidas foi validado por ensaio de cromo radioativo (CRA), usando linhagens de meduloblastoma e ATRT e tumores derivados de culturas primárias (n=8) como alvos. Além disso, o comportamento de células NK individuais foi avaliado por imagens de *time-lapse* de alta performance, medindo a fluorescência do marcador vital Sytox green nas células-alvo. Células HLA classe I^{neg} K562 e 721.221 foram usadas como controles positivos. Células T autólogas, propagadas em aAPC, como controle negativo. Tipagem HLA e KIR foi feita por sequenciamento de DNA. Para ensaios *in vivo* foi desenvolvido um modelo de meduloblastoma com camundongos NSG. Células DAOY (meduloblastoma) foram modificadas para expressar luciferase (ffLuc) e injetadas no cerebelo desses animais usando um parafuso-guia. Células NK foram injetadas pelo mesmo parafuso, em intervalos de 7 dias. A eficácia do tratamento foi avaliada por bioluminescência e imunohistoquímica. **Resultados:** Ao fim dos 21 dias de cocultura com aAPC observamos uma expansão numérica de células NK de 23.000 vezes, com um imunofenótipo de >95% CD3- e CD56/CD16+. O CRA demonstrou lise específica dos alvos por células NK, mas não por células T. Surpreendentemente, a incompatibilidade dos ligantes KIR das células NK e seus alvos não influenciou em seu potencial citolítico. Os dados de comportamento individual das células NK são concordantes com os do CRA. 100% dos camundongos desenvolveram tumores e a bioluminescência nos permitiu observar semiquantitativamente o volume tumoral. Após 21 dias de tratamento com células NK, observamos um aumento de massa tumoral de 9 vezes no grupo controle, ao passo que no grupo tratado o aumento foi de 2,5 vezes (P=0,0153). **Conclusão:** A geração de banco de células aAPC para expansão de células NK de acordo com as boas práticas de manufatura e nossos dados demonstrando a atividade citolítica das NK contra tumores neurológicos nos dá base para a implementação de um ensaio clínico usando células NK propagadas *in vitro* para o tratamento da recidiva de tumores neurológicos. Projeto aprovado pelo MD Anderson Cancer Center sob o nº111113131