

## **Relazione Scientifica del lavoro svolto nell'anno 2004 relativa al contratto di ricerca sovvenzionato con contributo donato da privati in ricordo di Sofia Luce Rebuffat**

Al termine del primo anno di lavoro, mi prego inviarvi una relazione delle attività da me svolte presso il Laboratorio di Immunologia dei Trapianti dell'Unità Operativa di Oncoematologia Pediatrica, IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia, riguardo al progetto di ricerca inerente agli approcci terapeutici per la cura dei bambini affetti da sindromi mielodisplastiche, finanziato con un contributo donato in ricordo di Sofia Luce Rebuffat e coordinato dal Dottor Franco Locatelli e dalle Dottoresse Daniela Montagna e Rita Maccario.

La principale linea di ricerca cui mi sono dedicata durante questo periodo e che prosegue tuttora riguarda il coinvolgimento delle cellule dendritiche nella leucemia mielomonocitica giovanile (LMMG) e la loro capacità di generare linfociti T-citotossici (CTL) con reattività e specificità antileucemica (cioè capaci di uccidere selettivamente e specificatamente le cellule leucemiche). L'unica forma attualmente conosciuta di trattamento definitivo della LMMG è il trapianto di midollo osseo allogenico (TMO), che consiste nell'infusione del midollo di un donatore proveniente dalla famiglia oppure da un donatore non consanguineo. Nonostante l'impiego del TMO, spesso la malattia si ripresenta e la ricaduta di malattia rappresenta la principale causa di fallimento del trattamento trapiantologico. Le cellule dendritiche sono le cellule del sistema immunitario più potenti nella stimolazione dei CTL, i linfociti specializzati a combattere la leucemia. Purtroppo, le stesse cellule dendritiche possono essere coinvolte nel processo di trasformazione leucemica alla base dello sviluppo di una LMMG, rendendo la risposta immunitaria meno efficace. Per superare quest'ostacolo stiamo cercando di studiare la possibilità di incrementare la risposta immunitaria anti-leucemica dell'organismo dopo il trapianto.

Traendo vantaggio da studi precedentemente condotti e pubblicati che inerivano a pazienti adulti affetti da una malattia simile alla LMMG, la leucemia mieloide cronica Philadelphia positiva, abbiamo documentato che:

le cellule dendritiche nella LMMG sono effettivamente coinvolte nel processo di leucemogenesi;

queste cellule dendritiche clonali sono, rispetto a quelle di soggetti sani, molto meno efficienti nel generare una risposta immunitaria anti-tumorale mediata da CTL;

le cellule dendritiche di un donatore sano, stimolate con cellule tumorali, in idonee condizioni sperimentali, sono in grado di generare un elevato numero di CTL, funzionalmente efficienti e in grado di essere impiegati dopo il trapianto in approcci di immunoterapia.

Accanto a questo progetto principale, ho avuto l'opportunità di svolgere altre ricerche nell'ambito della terapia cellulare antileucemia per pazienti pediatrici affetti da leucemie acute, linfatiche o mieloidi.

Mi sono, altresì, dedicata allo studio del ruolo svolto dalle cellule mesenchimali, che fanno parte della struttura del midollo osseo, nella risposta immunologica dopo trapianto allogenico di midollo osseo. Alcuni recenti studi suggeriscono che queste cellule hanno attività immunomodulatoria e sono in grado di diminuire la gravità della malattia del trapianto contro l'ospite (cioè la reazione mediata da cellule immunocompetenti del donatore contro i tessuti del paziente) senza aumentare la probabilità di ricaduta della

leucemia. Pertanto, stiamo studiando la capacità delle cellule mesenchimali di migliorare la tecnica di generazione *in vitro* di CTL precedentemente messa a punto nel laboratorio, allo scopo di incrementare il controllo della malattia dopo il trapianto.

Di seguito riporto un elenco degli studi pubblicati o presentati nel corso di eventi scientifici:

*“In vitro separation of GVL effect and GVHR from anti-leukemia CTL lines: a perspective for adoptive immunotherapy after allogeneic HSCT”*, D Montagna, F Locatelli, **L Daudt**, I Turin, E Montini, D Lisini, M Zecca, P Cerutti, A Moretta, P Comoli, R Maccario

Lavoro presentato nel 30° Annual Meeting of European Bone Marrow Transplantation Group a Barcellona 28-31 marzo 2004

*“Ruolo dell’Immunosorveglianza Anti-Tumorale nel Controllo della Malattia Residua Minima: Valutazione della Comparsa di Precursori Linfocitari T Citotossici (CTLp) Specifici per i Blasti Leucemici in Pazienti Affetti da Leucemia Linfatica Acuta”*, **Daudt L**, Locatelli F, Turin I, Montini E, Zecca M, Bonetti F, Telli S, Lisini D, Moretta A, Maccario R, Montagna D.

Lavoro presentato nel 31° Congresso Nazionale Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica a Stresa 10-12 ottobre 2004 e premiato come migliore comunicazione orale. **(ALLEGATO N. 1)**

*“Innovative approaches of adoptive immune cell therapy in paediatric recipients of haematopoietic stem cell transplantation”*, Locatelli F, Comoli P, Montagna D, Rossi F, **Daudt L**, Maccario R.

Lavoro pubblicato nel periodico “Best Practice & Research in Clinical Haematology”, 2004;17:479-92. **(ALLEGATO 2)**

*“Ex-vivo Expansion of Anti-Leukemia Cytotoxic T Lymphocytes (CTL) lines: role of Interleukin 15 (IL-15) in Enhancing the Recovery of CTLs and in Increasing the Number of T Central Memory Cells (TCM) Present in the Lines”*, **L Daudt**, R Maccario, F Locatelli, I Turin, E Montini, G Ballardini, A Moretta, F Bonetti, S Telli, P Comoli, M Zecca, D Montagna. **(ALLEGATO 3)**

Lo studio è stato accettato per la presentazione al 31° Annual Meeting of European Blood and Marrow Transplantation Group che si svolgerà a Praga 20-23 marzo 2005.

Tutte queste attività sono state di gran contributo per il mio perfezionamento professionale e di fondamentale importanza per lo sviluppo delle tecniche di terapia cellulare, che sono di grande utilità per migliorare la probabilità di guarigione di molti pazienti pediatrici affetti da malattie ematologiche.

Colgo l’occasione per porgervi i miei più sinceri ringraziamenti per l’opportunità che mi avete offerto e per sottolineare ancora una volta il notevole stimolo che il vostro gesto ha dato alla ricerca nell’ambito dell’ematologia pediatrica.

Pavia, 18 febbraio 2005

Liane Esteves Daudt  
Medico Ematologo Pediatra - ricercatore  
Laboratorio di Immunologia dei Trapianti  
Oncoematologia Pediatrica  
Policlinico San Matteo, Pavia - Italia