

Immunotherapie met 'natural killer'-cellen bij acute myeloïde leukemie

Natural killer cell immunotherapy against acute myeloid leukemia

P.M.M. van Hauten MSc¹, dr. N. Schaap² en dr. H. Dolstra³

SAMENVATTING

'Natural killer' (NK)-cellen zijn als onderdeel van ons aangeboren immuunsysteem direct in staat om virusgeïnfecteerde en afwijkende tumorcellen te herkennen en aan te vallen. NK-cellen van patiënten met chronische infecties of tumoren laten echter een verminderde functionaliteit zien. Een interessante nieuwe behandelingsmethode voor bepaalde maligniteiten zou adoptieve celtherapie met allogene NK-cellen kunnen zijn. Retrospectieve analyses van haplo-identieke allogene stamceltransplantaties bij patiënten met acute myeloïde leukemie lieten voor het eerst een graft-versus-leukemie-effect zien door donor-NK-cellen. Sindsdien hebben meerdere vroege klinische studies zowel in de transplantatiesetting als niet-transplantatiesetting laten zien dat toediening van allogene NK-cellen veilig is, geen graft-versus-host-ziekte veroorzaakt en bovendien een antileukemisch effect kan bewerkstelligen. Dit effect zal in de recente toekomst worden versterkt door nieuwe ontwikkelingen, zoals de combinatie met tumorspecifieke of 'checkpoint'-remmende antilichamen, genetische modificatie van NK-cellen en de combinatie met immuunmodulerende medicatie.

(NED TIJDSCHR HEMATOL 2018;15:152-7)

SUMMARY

Natural killer (NK) cells are part of our innate immune system and are known for their antitumor and antimicrobial activity. Unfortunately, NK cells from patients with chronic diseases and cancer show impaired functionality. Therefore, an interesting new approach for immunotherapy could be adoptive transfer of allogeneic NK cells. First signs of a graft-versus-leukemia effect by NK cells have been demonstrated from retrospective analyses of haploidentical allogeneic stem cell transplantations. Thereafter, multiple early clinical studies have shown that adoptive cell therapy with allogeneic NK cells is safe, does not induce graft-versus-host disease and can exert an antileukemic effect. This effect can be improved in the near future with ongoing developments in tumor-directing and checkpoint-inhibiting antibodies, genetically engineered NK cells and combining NK cell therapy with immunomodulating agents.

INLEIDING

Acute myeloïde leukemie (AML) is een ernstige hematologische ziekte die met name bij de oudere patiënt voorkomt met nog altijd een slechte prognose. Ongeveer 40-45% van de jongere en 10-20% van de oudere patiënten genezen met standaardtherapieën. Voor patiënten met refractaire of terugkerende ziekte zijn er beperkte behandelingsmogelijkheden, resul-

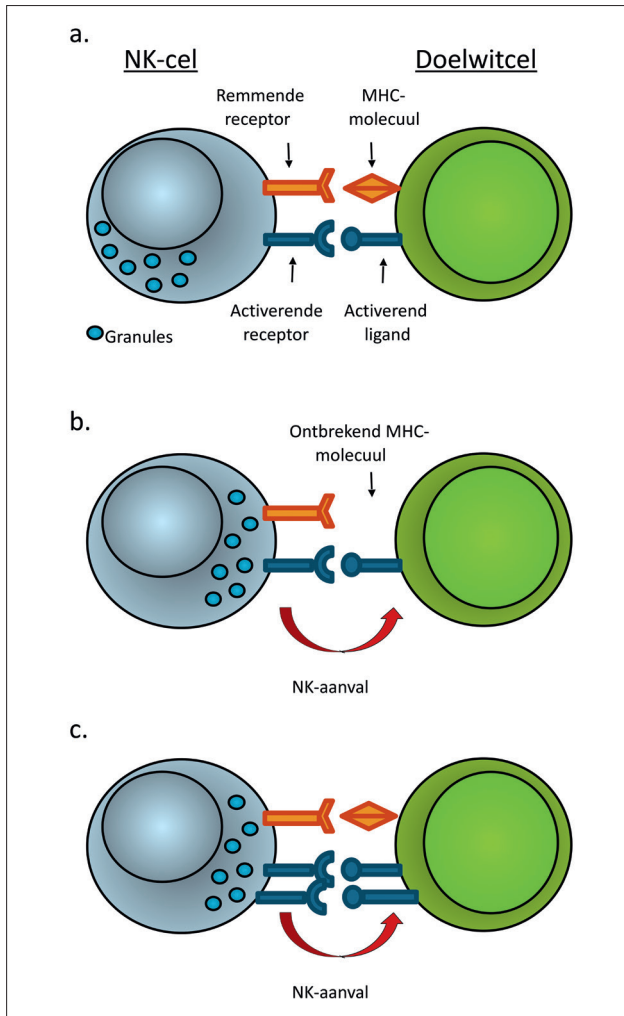
terend in een genezingspercentage van 10%. Huidige behandelingen bestaan uit intensieve chemotherapie, hypomethylerende geneesmiddelen, cytarabine of ondersteunende zorg, naast consolidatie met cellulaire immunotherapie gemedieerd door alloreactieve donor-immuuncellen bij een allogene hematopoëtische stamceltransplantatie (allo-HSCT). Aanwezigheid van minimale residuele ziekte (MRD) is echter geassocieerd

¹arts in opleiding tot internist en promovendus, afdeling Hematologie, ²internist-hematoloog, afdeling Hematologie, ³immunoloog, Laboratorium Hematologie-afdeling Laboratoriumgeneeskunde, Radboudumc. Correspondentie graag richten aan dhr. dr. H. Dolstra, afdeling Laboratoriumgeneeskunde, Radboudumc, Geert Grooteplein 8, 6525 GA Nijmegen, tel.: 024 361 97 53, e-mailadres: harry.dolstra@radboudumc.nl.

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Trefwoorden: acute myeloïde leukemie, immunotherapie, 'natural killer'-cellen

Keywords: acute myeloid leukemia, immunotherapy, natural killer cells



FIGUUR 1. Activatie van NK-cel. De activatie van de NK-cel is afhankelijk van de balans tussen activerende en remmende signalen. **a.** Gezonde cellen presenteren MHC-moleculen die de remmende receptoren activeren waardoor de NK-cel niet overgaat tot een aanval. **b.** NK-cellen kunnen worden geactiveerd als een tumorcel of geïnfecteerde cel de expressie van het remmende MHC-molecuul vermindert, genaamd 'missing-self'-activatie, of als ze de activerende liganden opreguleren (**c**). Bij een haplo-identieke allo-HSCT kunnen op de donor-NK-cellen de complementaire remmende KIR's ontbreken voor de ontvanger zijn MHC-moleculen, waardoor de NK-cel overgaat tot activatie als gevolg van het 'missing-self'-mechanisme.

met een verhoogde kans op terugkeer bij zowel myeloablatieve als non-myeloablatieve allo-HSCT.¹ Daarom zijn nieuwe therapieën dringend nodig om zowel refractaire ziekte als MRD te verminderen alvorens een AML-patiënt met allo-HSCT te behandelen. Een interessante mogelijkheid zou adoptieve celtherapie met allogene 'natural killer' (NK)-cellen kunnen zijn. Deze vorm van immunotherapie kan een antileukemisch

effect geven zonder ernstige bijwerkingen, wat het mogelijk een veelbelovende adjuvante of consoliderende behandeling maakt. In dit artikel geven we een overzicht hoe en waarom NK-cellen effectief zijn bij AML, wat de klinische studies ons tot dusver hebben geleerd en hoe we de doeltreffendheid kunnen vergroten.

NK-CELBIOLOGIE

NK-cellen zijn onderdeel van het aangeboren immuunsysteem en onze eerste barrière tegen infecties en tumoren. Ze herkennen virusgeïnfecteerde en maligne cellen, ruimen ze op en zijn zo betrokken in tumorsurveillance en het voorkomen van tumormetastasen.² In tegenstelling tot T-cellen maken ze hierbij geen gebruik van antigeenreceptoren en hoeven ze niet eerst te differentiëren alvorens ze functioneel actief zijn.

NK-cellen worden geactiveerd door cytokines zoals interleukine-2 (IL-2), IL-12 en IL-15, en door een balans in stimulatie van activerende en remmende receptoren op de buitenzijde van de NK-cel. Stimulatie van de NK-cel komt tot stand doordat de activerende receptoren meer liganden vinden op de doelwitcel dan de remmende receptoren (zie *Figuur 1*). Er bestaan verschillende remmende NK-celreceptoren, waarvan de meest prominente de 'killer-cel immunoglobulin-like receptors' (KIR's) zijn die MHC-klasse-I-moleculen herkennen, aanwezig op alle kernhoudende cellen.³ Onder normale condities weerhoudt de remmende KIR-MHC-I-interactie de NK-cel van cytotoxiciteit tegen lichaamseigen cellen. Wanneer er een KIR-MHC-I-'mismatch' optreedt of als op een virusgeïnfecteerde cel of tumorcel de MHC-I-expressie vermindert, dan valt het remmende signaal echter weg waardoor NK-celstimulatie optreedt. Dit wordt het 'missing-self'-mechanisme genoemd.

Voor werkelijke activatie van de NK-cellen is het wegvallen van de remmende prikkel vaak niet voldoende, maar moeten ook activerende receptoren worden gestimuleerd. NK-celactiverende receptoren zijn DNAM-1 en NKG2D, de natuurlijke cytotoxische receptoren (NCR's) zoals NKp30, NKp44, NKp46, het CD94/NKG2C-complex, de Fc-receptor CD16a en activerende KIR's. Liganden voor deze receptoren worden vaak opgereguleerd op virusgeïnfecteerde en tumorcellen waardoor deze gevoelig worden voor NK-cel-cytotoxiciteit. CD16a herkent specifiek het Fc-gedeelte van IgG-antilichamen, die gebonden kunnen zijn aan specifieke antigenen op het celoppervlak van hun doelwitcellen. Hierdoor worden antistof-geopsoniseerde 'targets' aangeboden voor NK-cel-gemedieerde antistof-afhankelijke celgemedieerde cytotoxiciteit (ADCC). Sommige van deze NK-cel-receptoren komen alleen tot expressie in bepaalde stappen van de NK-cel-ontwikkeling of in specifieke NK-cel-subpopulaties. Hierdoor

zijn er 6.000 tot 30.000 verschillende fenotypische NK-cel-populaties in elk gezond individu om flexibel op te kunnen treden tegen ziekteverwekkers en tumorcellen.⁴

Na activatie kunnen NK-cellen zowel een cytotoxische functie als immuunregulatorische functies vervullen. De twee belangrijkste cytotoxische mechanismen zijn enerzijds exocytose van cytoplasmatische granules die gevuld zijn met perforine en granzymen, en anderzijds kunnen NK-cellen abnormale cellen doden door middel van de apoptose-inducerende receptoren TRAIL en Fas-ligand die zij tot expressie brengen op het celmembraan. Bij het eerste mechanisme versmelten granules met de celmembraan van de NK-cel op de plaats waar beide cellen contact maken met elkaar, waarna de granules worden uitgestoten. Perforine maakt kleine poriën in het celmembraan van de doelwitcel waarna granzymen de cel binnendringen met celdood tot gevolg. Interactie van TRAIL en Fas-ligand op de NK-cel met hun tegenhangers op de doelwitcel leidt tot activatie van caspase-8 met geprogrammeerde celdood tot gevolg. Ten slotte produceren NK-cellen ook signaalmoleculen zoals de cytokines IFN- γ , TNF- α en GM-CSF, die een direct effect kunnen hebben op pathogenen en tumorcellen en andere cellen van het immuunsysteem kunnen activeren.

Om NK-cellen als behandeling in te zetten, is het belangrijk dat ze optimaal worden geactiveerd bij het treffen van een tumorcel. Tumoren daarentegen creëren manieren om NK-cel-doding te omzeilen. Zo kunnen ze remmende liganden als MHC-klasse-I-moleculen up-reguleren en activerende liganden juist down-reguleren.⁵

IMMUUNTHERAPIE MET NK-CELLEN BIJ AML

Een eerste aanwijzing dat allogene NK-cellen antileukemische werking kunnen vertonen komt voort uit resultaten van klinische allo-HSCT-studies. Na allo-HSCT vormen donor-NK-cellen namelijk de eerste lymfoïde subset die zich herstelt. Ze beschermen op dat moment de gastheer tegen infecties en achtergebleven maligne cellen. In 2002 publiceerden Ruggeri et al. voor het eerst over het graft-versus-leukemie-effect door donor-NK-cellen bij hoogrisico-AML-patiënten.⁶ Patiënten met KIR-ligand-incompatibiliteit vertoonden 60% progressievrije overleving na vijf jaar versus 5% in de KIR-ligand-compatibele groep, terwijl er geen verschil was in het optreden van graft-versus-hostziekte (GvHD). Verder lijken de donor-NK-cellen een vermindering van GvHD te bewerkstelligen door het uitschakelen van de patiënteigen antigeenpresenterende cellen die normaliter GvHD initiëren. Het graft-versus-leukemie-effect wordt meer uitgesproken waargenomen bij AML dan bij andere tumoren, waaronder ook ALL. Dit komt waarschijnlijk omdat AML-cellen minder MHC-

klasse-I-moleculen en juist meer activerende liganden tot expressie brengen.⁶

ONTWIKKELEN VAN POTENTE NK-CELLEN VOOR IMMUUNTHERAPIE

Recentelijk is er in verschillende klinische settings onderzoek uitgevoerd naar de mogelijkheid om NK-cellen in te zetten als immuuntherapie tegen AML en andere tumortypen. Het gebruik van autologe NK-cellen heeft vooralsnog niet geleid tot een therapeutisch effect bij hematologische maligniteiten.⁷ Autologe NK-cellen hebben vaak een verlaagde expressie van activerende receptoren en een verhoogde expressie van remmende receptoren op het oppervlak, laten verminderde cytokineproductie en cytolytische activiteit na activatie zien en missen het voordeel van alloreactiviteit.⁸

Huidige studies richten zich daarom op infusie van ex vivo geactiveerde en/of geëxpandeerde allogene NK-cellen. De meeste klinische studies worden verricht met NK-cellen verkregen vanuit perifere bloed van haplo-identieke of niet-gerelateerde donoren door middel van een NK-cel-verrijkmethode of een T-celdepletie methode.⁹ Daarnaast is de afgelopen jaren meer kennis verworven met NK-cellen gekweekt vanuit CD34⁺ hematopoëtische progenitorcellen afkomstig van onder andere navelstrengbloed (UCB-NK), geïnduceerde pluripotente stamcellen (iPSC-NK) en humane embryonale stamcellen (hESC-NK). Deze ex vivo gegenereerde NK-cellen hebben een sterk activerend fenotype met onder andere expressie van NKp44, NKp46, DNAM-1 en NKG2D, en potente cytotoxische activiteit tegen verschillende hematologische en solide tumorcellen in vitro.¹⁰ Expansie en nadien differentiatie van CD34⁺ navelstrengbloed progenitorcellen leidt tot een >1.000-voudige vermeerdering van NK-cellen en daarmee tot klinisch toepasbare aantallen.¹¹ Generatie van NK-cellen vanuit iPSC/hESC kan nog grotere aantallen geven, maar duurt langer en is vooralsnog niet toegepast in de praktijk.

NK-CEL-THERAPIE IN DE TRANSPLANTATIE-SETTING

In de allo-HSCT-setting zijn zowel NK-cellen verrijkt uit perifere bloed als ex vivo gegenereerde NK-cellen beide afkomstig van de HSCT-donor toegepast om het antileukemisch effect te verhogen.¹²⁻¹⁴ Killig et al. hebben aangetoond dat al kort na eenmalige toediening van donor-NK-cellen één dag na de transplantatie een populatie prolifererende mature NK-cellen aanwezig is, die vervolgens wordt vervangen door differentiërende populaties vanuit het transplantaat. Vanaf dag +20 was er sprake van een stabiel NK-cel-aantal.¹³ Bovendien was er na twee jaar sprake van een overleving van 37% in de NK-cel-behandelgroep versus 14% in de controle-

groep.¹³ Datzelfde jaar hebben Choi et al. twee en drie weken na haplo-identieke HSCT donor-NK-cellen tot een dosis van $\geq 1,0 \times 10^8$ cellen/kg lichaamsgewicht toegediend zonder dat er acute toxiciteit optrad.¹⁴ Vergelijking met een overeenkomend eerder behandeld cohort liet een significante daling van ziekteprogressie zien van 74% naar 46% gedurende een gemiddelde follow-up van 31,5 maanden.¹⁴ Tevens was er in de groep behandeld met NK-cellen minder chronische GvHD en transplantatie-gerelateerde mortaliteit.¹⁴

NK-CEL-THERAPIE IN EEN NIET-TRANSPLANTATIESETTING

In de niet-transplantatiesetting zijn NK-cellen bij myeloïde maligniteiten gebruikt bij patiënten met refractaire of teruggekeerde ziekte of als consolidatietherapie.¹⁵⁻¹⁹ Essentieel voor adequate NK-cel-expansie in vivo is voorafgaande immuunsuppressie met als doel een dusdanige lymfodepletie te bewerkstelligen die resulteert in een cytokinebeschikbaarheid die nodig is voor overleving van de toegediende NK-cellen en die tevens directe afstoting van de NK-cellen tegengaat. Hierbij is gebleken dat na een niet-myeloablatief conditioneringsregime met hoge dosis cyclofosfamide en fludarabine de NK-cellen 14 dagen na infusie nog persisteren in vivo zonder dat er sprake is van ernstige hematologische toxiciteit en/of ernstige andere complicaties.¹⁸ Pionierend en veelbelovend onderzoek in deze setting is uitgevoerd door Miller et al.¹⁸ In een eerste studie heeft deze groep 19 hoogrisico-AML-patiënten met refractaire of teruggekeerde ziekte behandeld met verrijkte NK-cellen afkomstig van haplo-identieke donoren. De NK-cellen werden verkregen na ex vivo T-cel-depletie van perifeer bloed gevolgd door overnachtstimulatie met IL-2. Vijf patiënten ontwikkelden complete remissie (CR) met een significant hoger aantal bij donoren met een KIR-ligand-‘mismatch’ en bij de patiënten met CR was het aantal circulerende NK-cellen significant hoger.¹⁸ In een recente update tonen ze het positieve effect aan van in vivo regulatoire T-cel-depletie met het cytotoxische fusie-eiwit IL-2-diferietoxine direct voor de NK-cel-toediening. Regulatoire T-cellen zijn chemotherapieresistent en gaan de competitie aan met de toegediende NK-cellen voor IL-2, wat mogelijk een negatief effect heeft op NK-cel-proliferatie.¹⁵ Daarnaast kunnen regulatoire T-cellen de functie van NK-cellen nadelig beïnvloeden. Depletie van regulatoire T-cellen door middel van dit eiwit in combinatie met toediening van een hogere dosis NK-cellen leidde tot een hoger percentage complete remissies en ziektevrije overleving na zes maanden.¹⁵

De meeste studies gebruiken IL-2 of soms IL-15 voor ex vivo activatie van NK-cellen. Recent onderzoek laat zien dat gecombineerde IL-12-, -15- en -18-stimulatie mogelijk leidt tot inductie van ‘memory-like’-NK-cellen met een betere

proliferatie en IFN- γ -productie na activatie met tumorcellen. Romee et al. toonden positieve antileukemische eigenschappen aan van deze ‘memory-like’-NK-cellen zowel in vitro als in vivo bij muizen.¹⁹ Bovendien werd een klinische fase 1-studie uitgevoerd bij AML-patiënten met refractaire of teruggekeerde ziekte waarbij vijf van de negen patiënten een morfologische complete respons lieten zien.¹⁹

Tevens is NK-cel-therapie onderzocht in een meer adjuvante setting als consolidatiebehandeling bij zowel kinderen als ouderen met AML.^{16,17,20} Bij volwassen AML-patiënten toonden Curti et al. aan dat enkele hoogrisicopatiënten met therapieresistentie of een moleculaire relaps een moleculaire CR bereikten na NK-cel-infusie gevolgd door IL-2-toediening.^{16,20} Verder vonden zij dat een significant hoger aantal donor alloreactieve NK-cel-klonen in het geïnfundeerde product correleerde met meer respons en toediening van hogere NK-cel-aantallen was geassocieerd met een langere ziektevrije overleving.²⁰ Dolstra et al. hebben in een overeenkomstige fase 1-consolidatiestudie bij 10 oudere AML-patiënten met een morfologische CR na standaardbehandeling gekweekte UCB-NK-cellen toegediend zonder extra cytokinetoediening.¹⁷ Infusie van deze UCB-NK-cellen bleek veilig te zijn en met name bij een hogere dosis waren de geïnfundeerde NK-cellen goed detecteerbaar in bloed en beenmerg en vertoonden ze verdere in vivo maturatie met toename van KIR- en CD16a-expressie.^{17,21} Twee van de vier patiënten met MRD waren na de UCB-NK-infusie MRD-negatief.¹⁷

Samenvattend hebben deze studies aangetoond dat NK-cel-therapie veilig is, goed wordt getolereerd en geen GvHD veroorzaakt. Daarnaast hebben ze zowel in de transplantatie- als niet-transplantatiesetting een antileukemisch effect laten zien, waardoor het een veelbelovende en breed toepasbare behandelmethode kan worden.

DE TOEKOMST VAN NK-CEL-THERAPIE

Om het effect van NK-cel-immunotherapie zo optimaal mogelijk te maken, zal de in vivo expansie, persistentie en activiteit verder moeten worden verbeterd. De NK-cel moet efficiënt en specifiek de tumorcellen aanvallen, vervolgens moet hij de meest optimale functionele capaciteiten bezitten en als laatste niet worden geremd door ‘immune checkpoints’ of een immuunmodulerende omgeving.

Uitgebreid onderzoek is reeds verricht naar in vivo ‘boosting’ van NK-cellen met cytokines, waarbij de meeste ervaring met IL-2 is opgedaan. Het grote nadeel van IL-2 is dat het ook stimulatie van regulatoire T-cellen geeft die een negatief effect hebben op de NK-cel-functie.¹⁵ Hierop is de aandacht verschoven naar toepassing van IL-15. IL-15 is echter meer effectief in membraangebonden vorm en zodoende is mem-

braangebonden IL-15 getransduceerd in ex vivo gekweekte NK-cellen, resulterend in NK-cellen met toegenomen overleving, proliferatie en cytotoxiciteit.²² Een andere toepassing is het IL-15-superagonist, ALT-803, bestaande uit een humane IL-15-mutant gebonden aan een IL-15-receptor α /IgG1 Fc-fusie-eiwit, waardoor het een significant langere halfwaardetijd heeft met een in vivo aangetoond positief effect op NK-cel-expansie.²³ Verschillende klinische studies, onder andere bij hematologische maligniteiten, worden momenteel uitgevoerd met ALT-803.

Genetische modificatie van NK-cellen kan ook op andere manieren worden toegepast. Zo is bij T-cellen al veel positieve ervaring met het gebruik van chimeer antigeenreceptoren (CAR's) om hematologische tumoren meer efficiënt te herkennen. Een CAR bestaat uit een extern 'target'-herkenningsdomein, gekoppeld aan een transmembraandomein en vervolgens een intracellulair signaleringsdomein dat de lymfocyt activeert. Toediening van CAR-T-cellen gericht tegen CD19 hebben al in meerdere klinische studies overtuigende resultaten laten zien.²⁴ Het mogelijke voordeel van CAR-NK-cellen is dat ze naast de extra activiteit door de CAR ook hun normale 'serial-killing'- en ADCC-eigenschappen behouden.²⁵ CAR's tegen AML kunnen zowel myeloïde differentiatieantigenen herkennen zoals CD123 als ook NK-cel-activerende liganden zoals NKG2D. Een groot nadeel bij AML is echter de afwezigheid van AML-specifieke antigenen met toxiciteit van de normale hematopoëse als gevolg. Dit zal zeker optreden bij CAR-T-cellen, maar mogelijk minder bij CAR-NK-cellen, omdat ze van nature een kortere levensduur hebben dan T-cellen.

Via de expressie van CD16a kan ook de ADCC-functie van NK-cellen worden ingezet om tumorcellen op een selectieve manier aan te vallen door de combinatie met tumorreactieve monoklonale antilichamen. Effectiviteit hiervan was tot nu toe beperkt door polymorfismen in CD16a (V158V, V158F, F158F), waardoor er een verschillende affiniteit is voor de gebruikte antilichamen. Hiervoor worden nu Fc-geoptimaliseerde monoklonale antilichamen ontwikkeld die een hogere affiniteit hebben voor CD16a op NK-cellen. Daarnaast wordt onderzoek verricht naar antistoffen tegen remmende receptoren. Een daarvan is lirilumab, een gehumaniseerde IgG4 anti-KIR monoklonaal antilichaam, gericht tegen de remmende KIR's KIR2DL1, L2 en L3. Toediening aan muizen in combinatie met een tumorcellijn resulteerde in een overlevingswinst.²⁶ Met een overeenkomstig werkingsmechanisme is IPH2101, een pan-KIR2D-antilichaam, veilig gebleken in een fase 1-studie bij oudere AML-patiënten in CR.²⁷ Andere toekomstige mogelijkheden zijn om NK-cel-infusies te combineren met blokkerende antilichamen tegen de 'checkpoint inhibitors' TIM3 en TIGIT.³ Ten slotte kan de antileukemi-

sche werking van NK-cellen verder worden vergroot door toediening te combineren met medicijnen die naast een direct antitumoreffect ook immuunmodulerende eigenschappen hebben. Lenalidomide stimuleert de IL-2-afhankelijke proliferatie van NK-cellen en de hypomethylerende middelen azacitidine en decitabine versterken de expressie van NK-cel-activerende NKG2D-liganden op leukemiecellen.^{28,29} In een recente publicatie in *Blood* toonden wij aan dat toevoeging van decitabine aan UCB-NK-cel-infusie resulteerde in een beter antileukemisch effect bij muizen.²⁸ Derhalve zou de combinatie decitabine en UCB-NK-cel-infusie een additief of synergistisch antileukemisch effect bij AML-patiënten kunnen opleveren.

CONCLUSIE

Infusie van allogene NK-cellen in combinatie met een cytokinegroefactor na tijdelijke lymfocytendepletende conditionering is een veilige toepassing van immuuntherapie die in verschillende settings tekenen van effectiviteit tegen AML heeft laten zien. De gegevens tot dusver zijn met name gebaseerd op klinische fase 1-studies waardoor overtuigende klinische uitkomsten nog op zich laten wachten. Het gebruik van UCB-NK- en iPSC-NK-producten biedt vele mogelijkheden om ex vivo gegenereerde NK-cellen tot een actief en matuur fenotype te differentiëren en bovendien te combineren met genetische modificatie. Het is echter te vroeg om te beoordelen welk NK-celproduct uiteindelijk het beste zal werken. Dit zullen vergelijkende studies moeten uitmaken. Naar onze mening is het wel waarschijnlijk dat een uiteindelijk optimaal NK-celproduct zal worden gecombineerd met NK-celfunctie-versterkende medicatie om een maximaal antileukemie-effect te krijgen.

REFERENTIES

1. Anthias C, et al. Pre-transplant MRD predicts outcome following reduced-intensity and myeloablative allogeneic hemopoietic SCT in AML. *Bone Marrow Transplant* 2014;49(5):679-83.
2. Krasnova Y, et al. Bench to bedside: NK cells and control of metastasis. *Clin Immunol* 2017;177:50-9.
3. Cooley S, et al. Strategies to activate NK cells to prevent relapse and induce remission following hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2018;131(10):1053-62.
4. Horowitz A, et al. Genetic and environmental determinants of human NK cell diversity revealed by mass cytometry. *Sci Transl Med* 2013;5(208):208ra145.
5. Parham P, et al. Variable NK cell receptors and their MHC class I ligands in immunity, reproduction and human evolution. *Nat Rev Immunol* 2013;13(2):133-44.
6. Ruggeri L, et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science* 2002;295(5562):2097-100.
7. Parkhurst MR, et al. Adoptive transfer of autologous natural killer cells leads to high levels of circulating natural killer cells but does not mediate tumor regression. *Clin Cancer Res* 2011;17(19):6287-97.

AANWIJZINGEN VOOR DE PRAKTIJK

- 1 NK-cellen zijn als onderdeel van ons aangeboren immuunsysteem actief betrokken in tumorsurveillance en het voorkomen van tumormetastasen. Ze worden geactiveerd door cytokines en een balans in stimulatie van activerende en remmende receptoren op de buitenzijde van de NK-cel.**
- 2 Immunotherapie met allogene NK-cellen kan een antileukemisch effect bewerkstelligen zonder tekenen van graft-versus-hostziekte of andere ernstige bijwerkingen, wat het een veelbelovende nieuwe adjuvante of consoliderende behandeling maakt.**
- 3 NK-cellen kunnen worden verkregen vanuit perifere bloed van donoren of ex vivo worden gedifferentieerd vanuit hematopoëtische progenitorcellen. Met deze laatste methode kunnen voldoende NK-cellen voor klinische toepassingen worden verkregen met tevens een actief fenotype.**
- 4 Het antileukemisch effect van NK-cellen kan worden gestimuleerd door infusie te combineren met een cytokinegroefactor. Nieuwe ontwikkelingen om het antileukemisch effect te vergroten zijn genetische modificatie van NK-cellen, combinatie met tumorreactieve of 'checkpoint'-remmende antilichamen of combinatie met immunomodulerende medicatie.**

8. Gill S, et al. Rapid development of exhaustion and down-regulation of eomesodermin limit the antitumor activity of adoptively transferred murine natural killer cells. *Blood* 2012;119(24):5758-68.
9. Koepsell SA, et al. Natural killer cells: a review of manufacturing and clinical utility. *Transfusion* 2013;53(2):404-10.
10. Woll PS, et al. Human embryonic stem cells differentiate into a homogeneous population of natural killer cells with potent in vivo antitumor activity. *Blood* 2009;113(24):6094-101.
11. Spanholtz J, et al. Clinical-grade generation of active NK cells from cord blood hematopoietic progenitor cells for immunotherapy using a closed-system culture process. *PLoS One* 2011;6(6):e20740.
12. Yoon SR, et al. Generation of donor natural killer cells from CD34(+) progenitor cells and subsequent infusion after HLA-mismatched allogeneic hematopoietic cell transplantation: a feasibility study. *Bone Marrow Transplant* 2010;45(6):1038-46.
13. Killig M, et al. Tracking in vivo dynamics of NK cells transferred in patients undergoing stem cell transplantation. *Eur J Immunol* 2014;44(9):2822-34.
14. Choi I, et al. Donor-derived natural killer cells infused after human leukocyte antigen-haploidentical hematopoietic cell transplantation: a dose-escalation study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014;20(5):696-704.
15. Bachanova V, et al. Clearance of acute myeloid leukemia by haploidentical natural killer cells is improved using IL-2 diphtheria toxin fusion protein. *Blood* 2014;123(25):3855-63.
16. Curti A, et al. Successful transfer of alloreactive haploidentical KIR ligand-mismatched natural killer cells after infusion in elderly high risk acute myeloid leukemia patients. *Blood* 2011;118(12):3273-9.
17. Dolstra H, et al. Successful transfer of umbilical cord blood CD34+ hematopoietic stem and progenitor-derived NK cells in older acute myeloid leukemia patients. *Clin Cancer Res* 2017;23(15):4107-18.
18. Miller JS, et al. Successful adoptive transfer and in vivo expansion of human haploidentical NK cells in patients with cancer. *Blood* 2005;105(8):3051-7.
19. Romee R, et al. Cytokine-induced memory-like natural killer cells exhibit enhanced responses against myeloid leukemia. *Sci Transl Med* 2016;8(357):357ra123.
20. Curti A, et al. Larger size of donor alloreactive NK cell repertoire correlates with better response to NK cell immunotherapy in elderly acute myeloid leukemia patients. *Clin Cancer Res* 2016;22(8):1914-21.
21. Cany J, et al. Natural killer cells generated from cord blood hematopoietic progenitor cells efficiently target bone marrow-residing human leukemia cells in NOD/SCID/IL2Rg(null) mice. *PLoS One* 2013;8(6):e64384.
22. Imamura M, et al. Autonomous growth and increased cytotoxicity of natural killer cells expressing membrane-bound interleukin-15. *Blood* 2014;124(7):1081-8.
23. Kim PS, et al. IL-15 superagonist/IL-15RalphaSushi-Fc fusion complex (IL-15SA/IL-15RalphaSu-Fc; ALT-803) markedly enhances specific subpopulations of NK and memory CD8+ T cells, and mediates potent anti-tumor activity against murine breast and colon carcinomas. *Oncotarget* 2016;7(13):16130-45.
24. Park JH, et al. CD19-targeted CAR T-cell therapeutics for hematologic malignancies: interpreting clinical outcomes to date. *Blood* 2016;127(26):3312-20.
25. Klingemann H. Are natural killer cells superior CAR drivers? *Oncoimmunology* 2014;3:e28147.
26. Sola C, et al. Anti-tumoral efficacy of therapeutic human anti-KIR antibody (lirilumab/BMS-986015/IPH2102) in a preclinical xenograft tumor model. *J Immunother Cancer* 2013;1(1):P40.
27. Vey N, et al. A phase 1 trial of the anti-inhibitory KIR mAb IPH2101 for AML in complete remission. *Blood* 2012;120(22):4317-23.
28. Cany J, et al. Decitabine enhances targeting of AML cells by CD34+ progenitor-derived NK cells in NOD/SCID/IL2Rgnull mice. *Blood* 2018;131(2):202-14.
29. Acebes-Huerta A, et al. Lenalidomide induces immunomodulation in chronic lymphocytic leukemia and enhances antitumor immune responses mediated by NK and CD4 T cells. *Biomed Res Int* 2014;2014:265840.

ONTVANGEN 30 JANUARI 2018, GEACCEPTEERD 10 APRIL 2018.