

DISS. ETH NO. 27204

NOVEL ANTIBODY-BASED APPROACHES FOR THE  
TREATMENT OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA

A dissertation submitted to attain the degree of  
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH  
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

LAURA VOLTA

MSc in Biomedical Engineering, Politecnico di Milano

born on 11 October 1993

citizen of Bologna, Italy

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Dario Neri, examiner

Prof. Dr. Paolo Arosio, co-examiner

2020

## Abstract

Acute Myeloid Leukemia (AML) develops from hematopoietic stem and progenitor cells (HSPCs). Despite current treatment regimen, the majority of AML patients receiving chemotherapy and/or allogeneic HSPC transplantation, relapse from the surviving AML cells, which remains the principal cause of treatment failure. Therefore, alternative therapies are needed.

Those applications are complicated by the lack of specific target antigens, that should ideally be expressed exclusively on leukemia cells but not on progenitor cells. The heterogeneous antigen expression on AML blasts and their concomitant presence on HSPCs have been studied in the frame of this work. In order to facilitate the choice of suitable targets, a comparative study of clinically relevant surface antigens on AML patient samples and healthy donors was performed using flow cytometry techniques

This thesis reports the generation of antibody-based therapies, such as bispecific T-cell engagers or chimeric antigen receptor (CAR) T cells, for the treatment of AML. Aiming to have downstream control over engrafted CAR T cells, a novel adaptor-mediated CAR T construct, also known universal CAR T-cells, has been proposed. The biocidal activity occurs only in the presence of suitable bispecific antibody-based adaptor molecules, that cross-link the effector T cells with tumor cells. A novel universal CAR T approach using combinatorial targeted therapies was explored in order to selectively accumulate at the tumor site and potentially prevent the escape of the negative clones.

## Sommario

La leucemia acuta mieloide (LAM) si sviluppa a partire da staminali ematopoietiche e da cellule progenitrici. Nonostante l'attuale schema terapeutico, la maggioranza dei pazienti affetti da LAM che vengono sottoposti a chemioterapia e trapianto allogenico di cellule progenitrici ematopoietiche, ricadono a causa delle cellule leucemiche sopravvissute, fattore che rimane la principale causa di fallimento terapeutico. Pertanto, vi è la necessità di trattamenti alternativi.

Queste applicazioni sono complicate dalla mancanza di specifici antigeni target, che dovrebbero idealmente essere espressi esclusivamente sulle cellule leucemiche, ma non su quelle progenitrici. L'eterogenea espressione antigenica sui blasti di LAM e la loro concomitante presenza sulle cellule progenitrici è stata studiata nel contesto di questo lavoro. Per facilitare la scelta di possibili target, è stato attuato uno studio comparativo tra antigeni di superficie clinicamente rilevanti su campioni di pazienti con LAM e donatori sani, usando tecniche di citometria a flusso.

La presente tesi descrive la realizzazione di farmaci immunoterapici per il trattamento della LAM, basati su anticorpi bispecifici T-cell engagers o cellule T ingegnerizzate in modo da esprimere un chimeric antigen receptor (CAR). È stato proposto in passato l'utilizzo di cellule CAR-T attivate solo in presenza di molecole linker, anche note come cellule CAR-T universali, in modo tale da avere un controllo dall'esterno sulle cellule, una volta iniettate. L'attività biocida, infatti, avviene solo quando queste molecole linker sono presenti ed interconnettono le cellule T e le cellule tumorali. Viene infine presentato un nuovo sistema basato sul concetto delle cellule CAR-T universali usando combinazioni di molecole linker che si accumulino preferenzialmente sulla superficie tumorale prevenendo la potenziale sopravvivenza di cloni negativi.