

DISS. ETH NO. 26289

TREATING ACUTE MYELOID LEUKEMIA WITH  
NOVEL ANTIBODY-BASED THERAPIES

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

JONATHAN DAVID KIEFER

Master of Science in Biological Science (ETH Zurich)

born 13 March 1989

citizen of Munich, Germany

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Dario Neri, examiner

Prof. Dr. Michael Detmar, co-examiner

2019

Jonathan Kiefer: *Treating Acute Myeloid Leukemia with Novel Antibody-  
Based Therapies*, © 2019

## SUMMARY

---

Acute Myeloid Leukemia (AML) originates from hematopoietic stem and progenitor cells (HSPCs). A minority of AML patients can be cured by intensive induction chemotherapy and subsequent hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). Unfortunately, this therapeutic intervention is no option for elderly and unfit patients, which comprise the majority of AML patients.

We propose to replace intensive chemotherapeutic regimens with specific disease elimination by immunotherapy. As a target for immunotherapeutic intervention we chose the cell-of-origin antigen CD117.

CD117 (c-Kit), which is a surface marker expressed on healthy HSPCs and the majority of malignant AML blast cells, plays a crucial role during hematopoiesis, as well as proliferation and differentiation of the early myeloid compartment.

This thesis reports the generation and characterization of three specific therapeutic interventions targeting CD117<sup>+</sup> AML blast cells and HSPCs.

In one experimental chapter we describe the selection and characterization of novel monoclonal antibodies against murine CD117. These newly generated antibodies were shown to increase the number of early primitive myeloid precursor cells *in vivo*.

## SUMMARY

In a second experimental chapter we report the generation and characterization of a bispecific antibody targeting human CD117 and CD3 on T cells. The bispecific antibody was able to specifically eliminate CD117-expressing AML blasts *in vitro* and prevented leukemia engraftment *in vivo*.

A third experimental chapter describes the generation of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T-cells targeting human CD117. The genetically engineered T cells were shown to efficiently eliminate CD117-expressing healthy and malignant hematopoietic cells. In a therapeutic setting, the CAR T-cells eradicated human AML *in vivo* in xenografted immunodeficient mice.

## ZUSAMMENFASSUNG

---

Die akute myeloische Leukämie (AML) hat ihren Ursprung in hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen. Ein kleiner Teil an AML Patienten kann durch intensive Chemotherapie und eine darauf folgende Transplantation mit hämatopoetischen Stammzellen geheilt werden. Leider ist diese therapeutische Intervention keine Option für ältere und schwächere Patienten, welche den Großteil der AML Patienten ausmachen.

Wir schlagen vor, die Hochdosis-Chemotherapie mit einer spezifischen Krankheitseliminierung durch Immuntherapie zu ersetzen. Als Zielantigen für die immuntherapeutische Behandlung haben wir das Ursprungszellen-Antigen CD117 gewählt.

CD117 (c-Kit) ist ein Oberflächenmarker, der auf gesunden hämatopoetischen Stamm- und Progenitorzellen, sowie auf der Mehrzahl der bösartigen AML Blasten exprimiert wird. CD117 spielt eine entscheidende Rolle während der Hämatopoese und bei der Vermehrung und Differenzierung des frühen myeloischen Kompartiments.

Diese Dissertation beschreibt die Entwicklung und Charakterisierung von drei spezifischen Behandlungsmethoden, die gegen CD117-positive AML Blasten, sowie hämatopoetische Stamm- und Progenitorzellen gerichtet sind.

## ZUSAMMENFASSUNG

Ein experimentelles Kapitel beschreibt die Selektion und Charakterisierung von neuartigen monoklonalen Antikörpern gegen das murine Antigen CD117. Diese neu generierten Antikörper vermehrten die Anzahl an frühen, primitiven myeloischen Progenitorzellen *in vivo*.

In einem zweiten experimentellen Kapitel berichten wir über die Generierung und Charakterisierung eines bispezifischen Antikörpers, der gegen humanes CD117 und CD3 auf der Oberfläche von T-Lymphozyten gerichtet ist. Dieser bispezifische Antikörper war in der Lage, CD117-exprimierende AML Blasten *in vitro* zu eliminieren, sowie das Anwachsen einer Leukämie *in vivo* zu verhindern.

Ein drittes experimentelles Kapitel beschreibt die Entwicklung einer CAR-T-Zell-Therapie gegen humanes CD117. Diese genetisch veränderten T-Zellen zeigten eine effiziente Eliminierung von gesunden und malignen hämatopoetische Zellen, die CD117 exprimierten. In einem therapeutischen Ansatz waren die CAR-T-Zellen in der Lage, menschliche AML in einem Xenotransplantat in immundefekten Mäusen zu eliminieren.