

Settima edizione di

AIEOP..

...in Lab



Studio clinico di fase I/II sulla sicurezza e l'efficacia preliminare di linfociti T citotossici anti-leucemia derivati da donatori per la prevenzione della recidiva di leucemia in bambini sottoposti a trapianto di cellule staminali emopoietiche aploidentiche

Rocca Giulia

Milano, 22 e 23 maggio 2026

Trapianto di cellule staminali ematopoietiche aploidentiche da donatore familiare parzialmente compatibile (haplo-HSCT)

haplo-HSCT

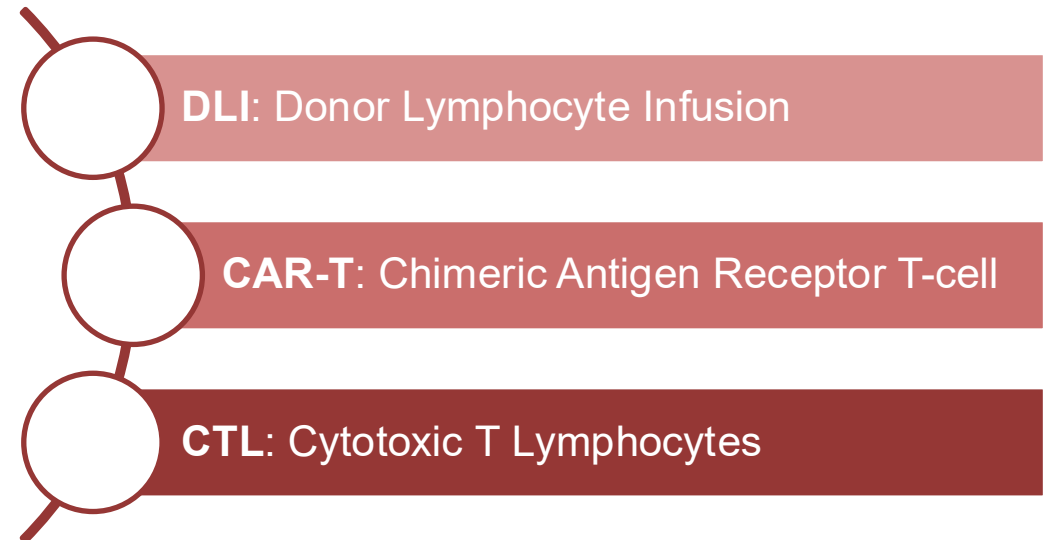
Offre possibilità di trapianto a chi manca di un donatore HLA-compatibile

Rischio di recidiva nel primo periodo post-trapianto

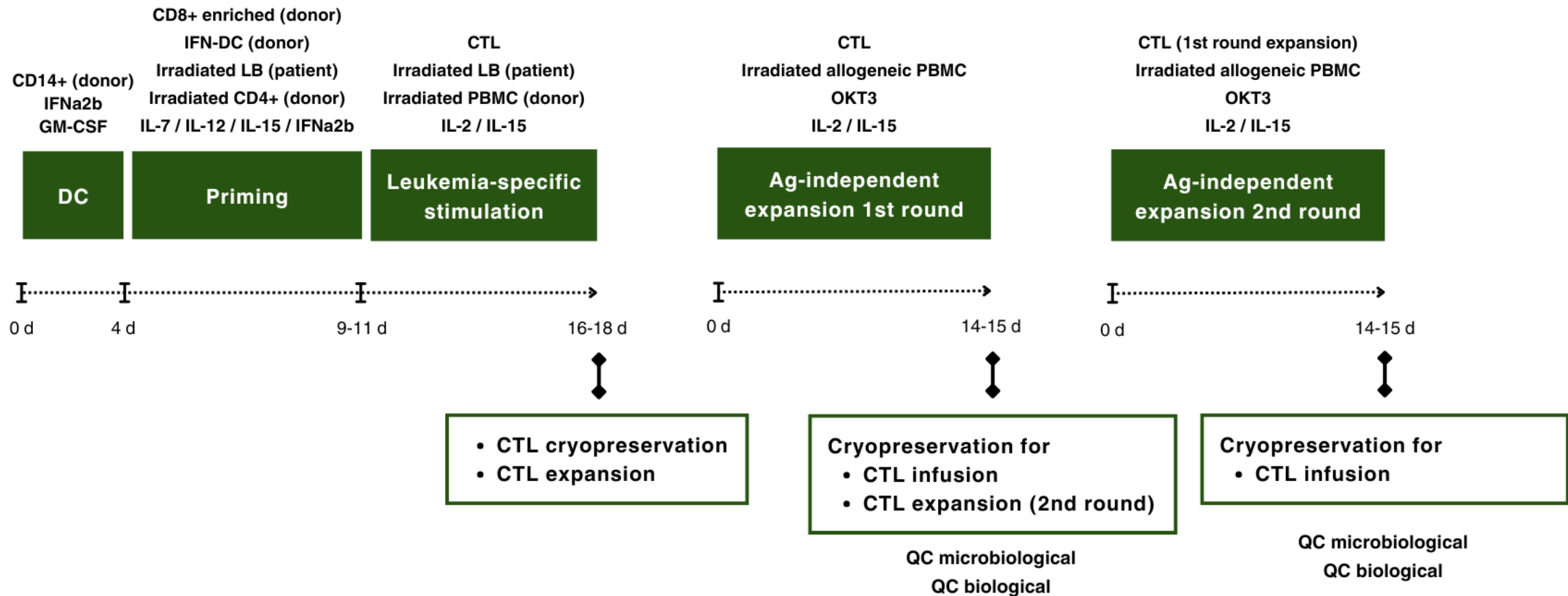
Possibilità di raccolta di altri prodotti cellulari del donatore

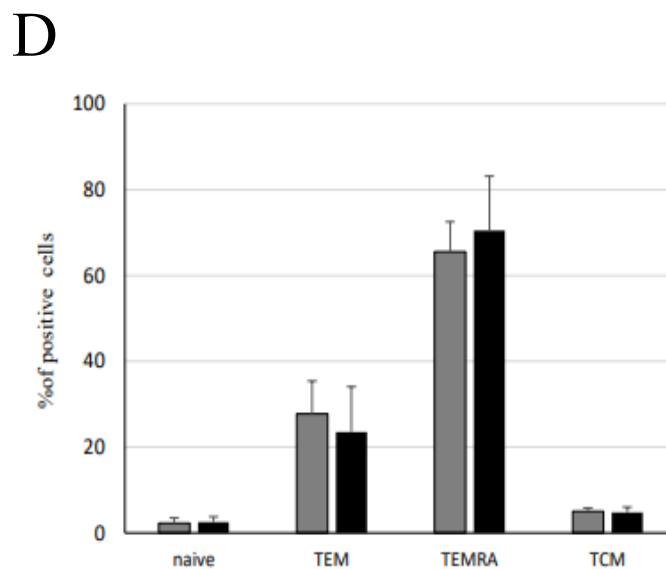
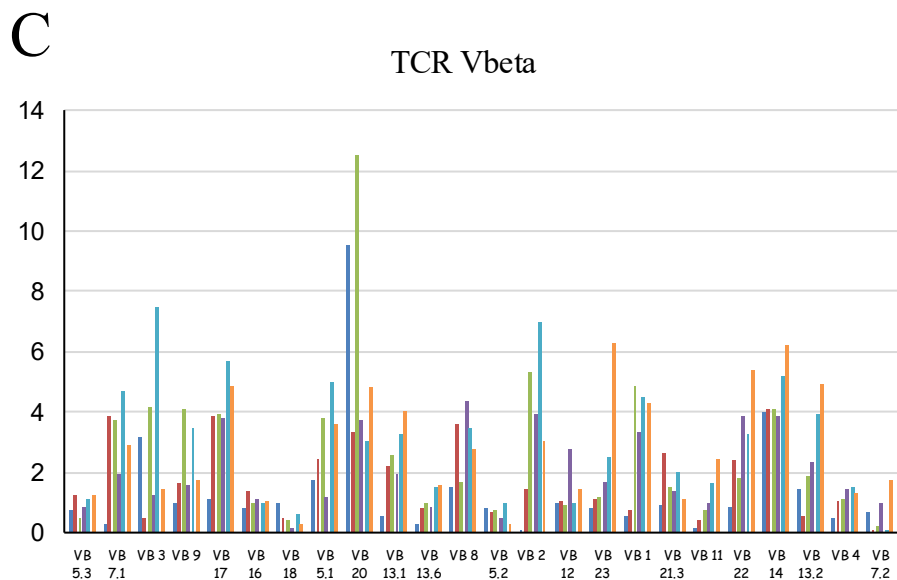
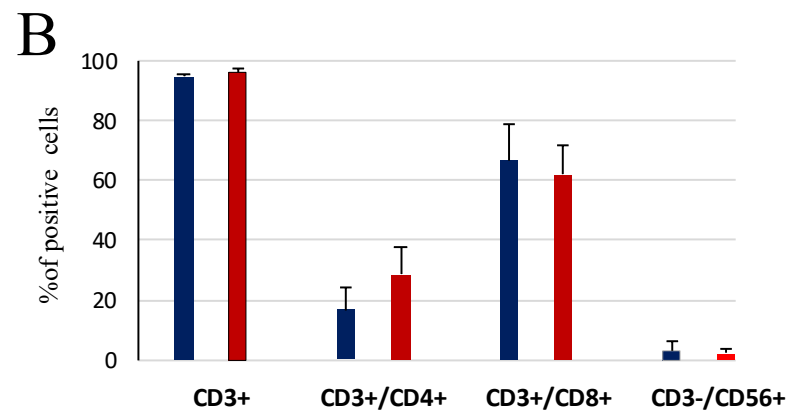
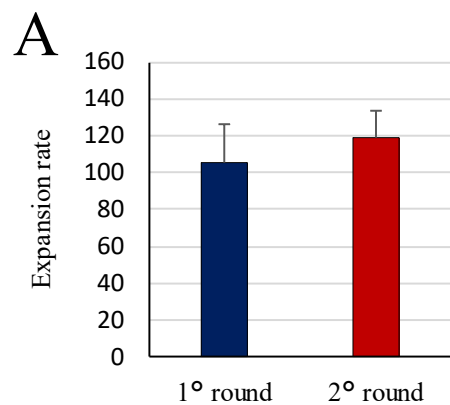


Terapia cellulare post-trapianto:



Nei laboratori della Clinica Pediatrica/Cell Factory della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo è stato sviluppato ed ottimizzato negli anni un protocollo per l'induzione ed espansione di CTL anti-leucemia nel contesto dell'haplo-HSCT





A

I tassi di espansione per i diversi lotti sono alti e molto omogenei

B

La maggior parte delle cellule ottenute sono linfociti CD3+/CD8+, con basse percentuali di CD3+/CD4+

C

La valutazione del repertorio TCR Vbeta conferma la policlonalità del prodotto cellulare ottenuto

D

I CTL sono cellule T altamente differenziate caratterizzate da un'elevata capacità citotossica

E

La maggior parte dei lotti è in grado di riconoscere e uccidere in modo efficiente i blasti leucemici dei pazienti

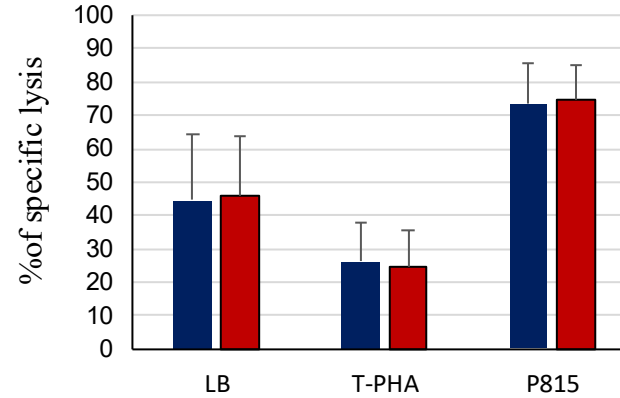
F

I CTL sono in grado di riconoscere e lisare sia blasti di leucemia linfatica che mieloide

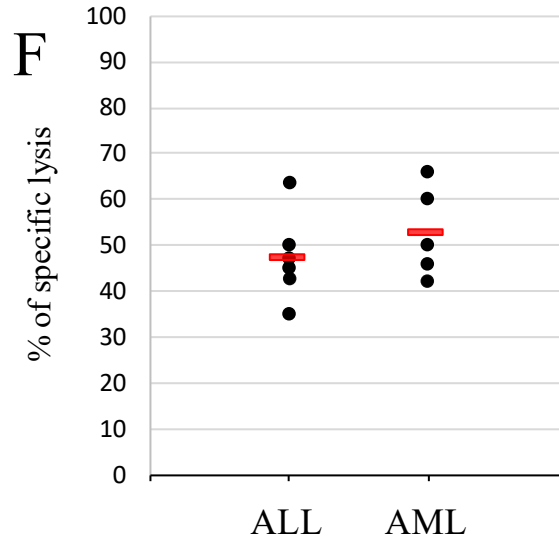
G

I CTL esprimono la loro capacità citotossica anche attraverso produzione di citochine (IFN- γ e TNF- α)

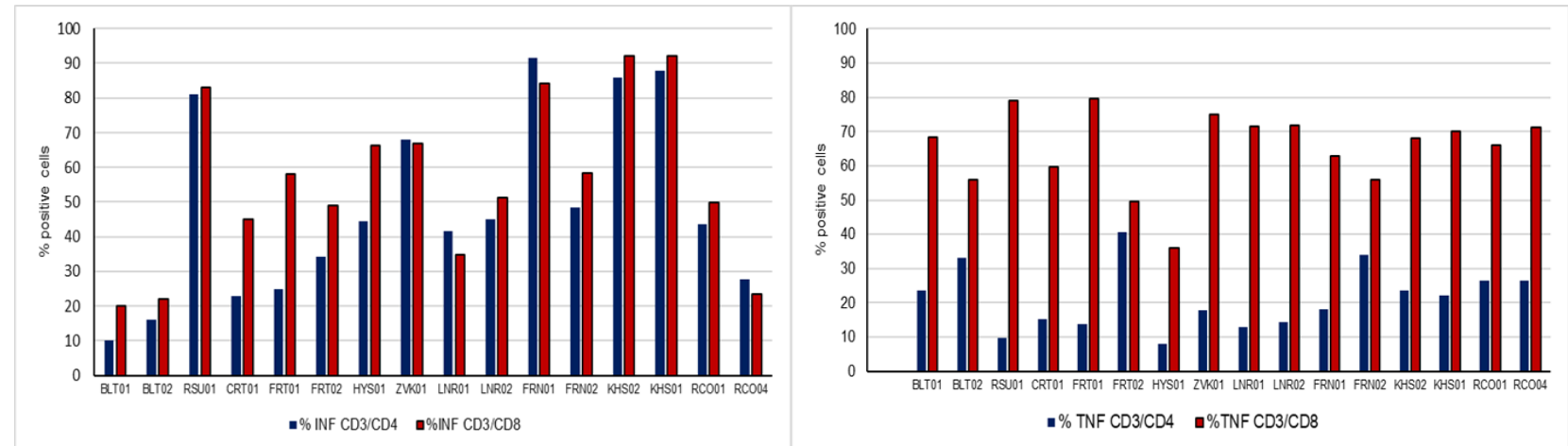
E



F



G



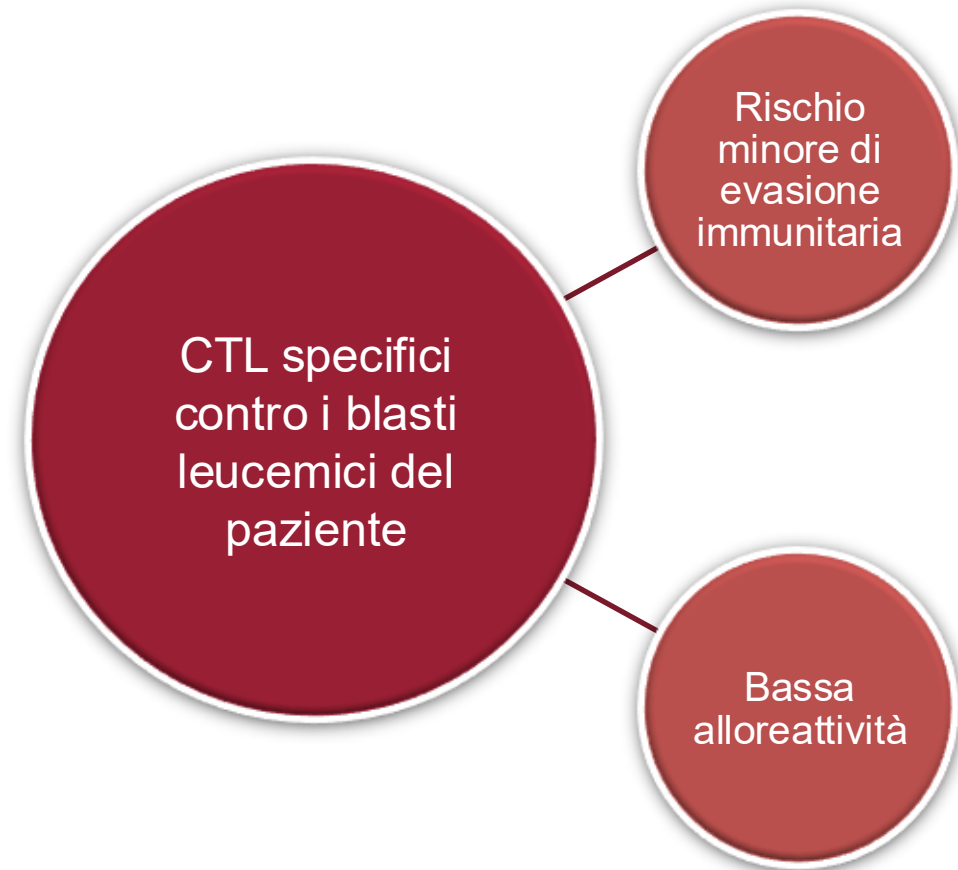
Controlli qualità

CQ	Test	Pre-cong	Scong
Sterilità	Automated culture method	X	
Endotossina	LAL test	X	
Micoplasma	RT-PCR	X	
Vitalità	Trypan Blue staining	X	X
Recupero cellulare		X	X
Immunofenotipo	Flow cytometry analysis		X
Identità genotipica	Molecular analysis	X	
Potency	Cytotoxicity (⁵¹ Cr release assay)		X

Criteri di rilascio

Parametro	Valore di accettabilità
Sterilità	Test negativi
Endotossina	< 0.5 EU/ml
Micoplasma	Assente
Vitalità	> 80% di cellule vitali
Immunofenotipo	T-CD3+ ≥ 75%, CD3-/CD56+ ≤ 25%, somma di CD19+ e CD14+ ≤ 5%
Identità genotipica	Identità molecolare tra PMTC e materiale biologico di partenza Assenza di materiale genetico estraneo
Potency	Attività citolitica > 45% al rapporto E:T di 25:1 contro la linea p815

Valutazione dell'impatto della somministrazione post haplo-HSCT di dosi scalari di CTL anti-leucemia di origine del donatore sull'outcome dei pazienti





Cell Factory- UC Oncoematologia Pediatrica Policlinico San Matteo

Leuk-CTL-001

Studio prospettico non randomizzato di fase I/II sulla sicurezza e l'efficacia preliminare dell'infusione di CTL anti-leucemia in pazienti pediatrici affetti da ALL o AML ad alto rischio di recidiva (>50%) dopo aplo-HSCT

Obiettivo primario:

Sicurezza dell'infusione di CTL valutata in base alla insorgenza di GvHD

Obiettivi secondari:

Efficacia del trattamento in termini di prevenzione della ricaduta

Incidenza di complicazioni

Criteri di inclusione

ALL

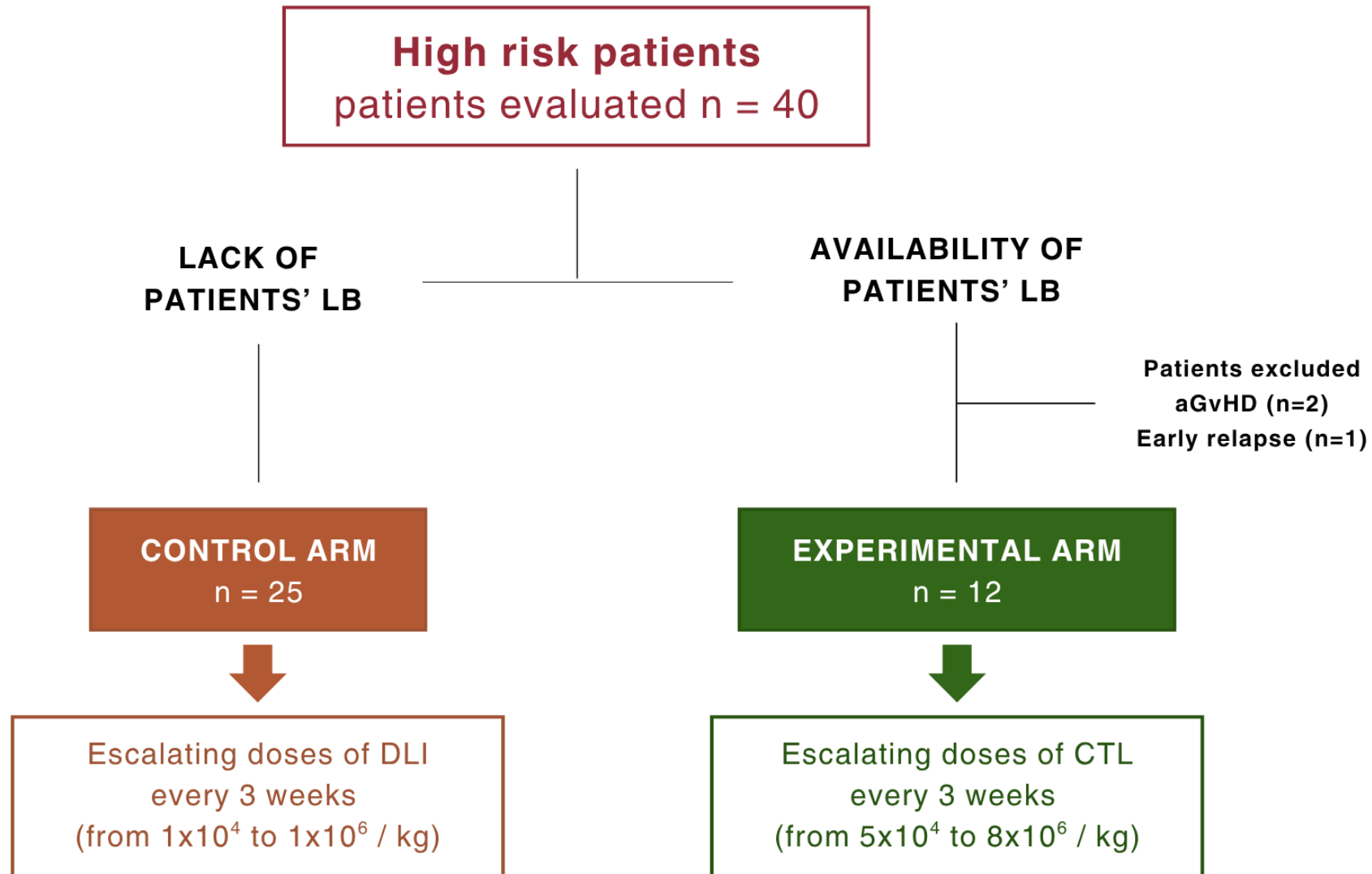
- Età ≤ 18 anni e ≥ 1 mese
- Aspettativa di vita > 12 settimane
- Remissione morfologica con MRD ≥ 1×10^{-3}
- Remissione morfologica dopo una recidiva ad alto rischio
- Remissione morfologica con MRD positiva
- ≥ Remissione morfologica
- Non in remissione morfologica al momento del trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HSCT)
- Punteggio di Lansky/Karnofsky pre-HSCT ≥ 40%
- Negatività all'HIV
- Consenso informato scritto e firmato

AML

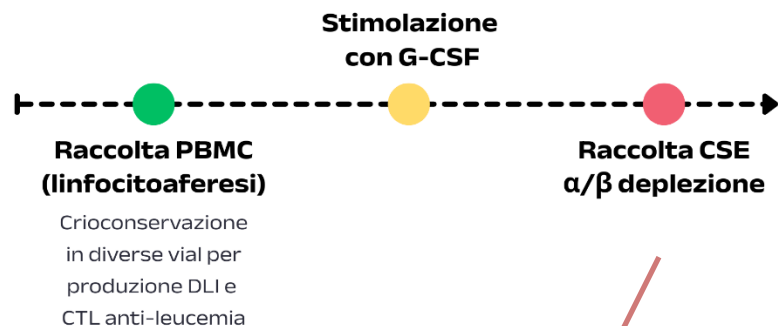
- Età ≤ 18 anni e ≥ 1 mese
- Aspettativa di vita > 12 settimane
- Remissione morfologica I con flusso ≥ 0,1% (EI)
- Remissione morfologica I con aberrazioni citogenetiche
- Remissione morfologica I dopo fallimento dell'induzione
- Remissione morfologica II/III
- Non in remissione morfologica al momento del trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HSCT)
- Punteggio di Lansky/Karnofsky pre-HSCT ≥ 40%
- Negatività all'HIV
- Consenso informato scritto e firmato

Criteri di esclusione

- GVHD acuta o cronica in fase attiva a seguito di un precedente trapianto
- Malattia infettiva attiva
- Grave malattia cardiovascolare
- Disfunzione epatica/renale
- Insufficienza multiorgano irreversibile in fase terminale
- Altra neoplasia attiva
- Paziente di sesso femminile in gravidanza o in allattamento
- Mancanza di consenso informato



Donatore



Inizio del trattamento entro 45-75gg dal trapianto

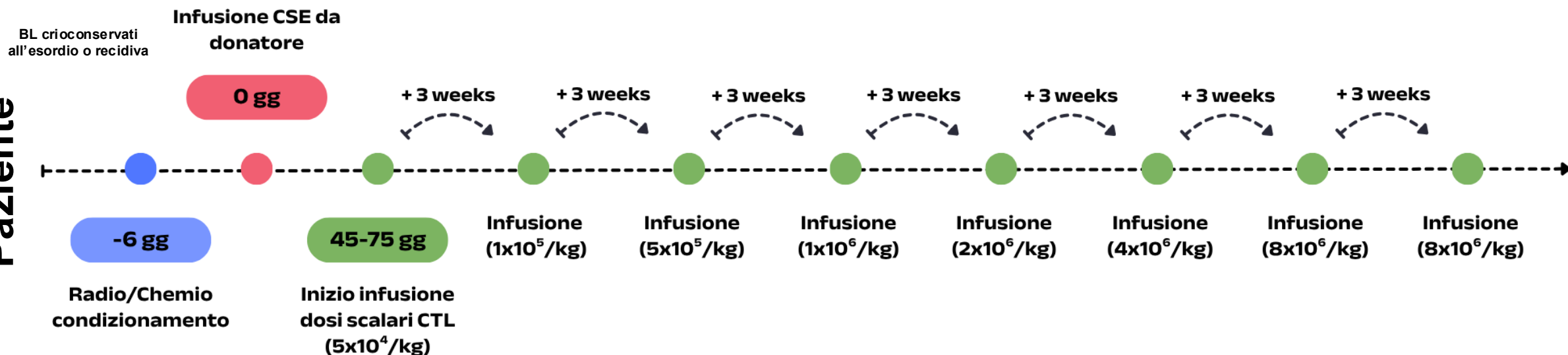
Durata del trattamento: 6-8 mesi

Somministrazione dosi crescenti di CTL ogni 3 settimane

Periodo di follow-up: 24 mesi



Paziente



UPN	Disease	Age/Weight	Donor	State at transplant	CTL produced	Number of infusions
001	AML	13yrs / 35kg	Father	3° CR, 2° transplant	4 x 10e9	10
003	T-ALL	7yrs / 22kg	Mother	2° CR	2,3 x 10e9	10
004	BCP-ALL	5yrs / 18kg	Father	2° CR	2,2 x 10e9	10
005	AML	17yrs / 45kg	Father	3° CR, 2° transplant	2,5 x 10e9	2
008	BCP-ALL	16yrs / 38kg	Father	1° CR MRD	2,2 x 10e9	4
009	BCP- ALL	18yrs / 79kg	Brother	2° CR	3,5 x 10e9	10
010	BCP-ALL	7yrs / 21kg	Mother	2° CR	2,1 x 10e9	9
011	BCP-ALL	12yrs / 38kg	Mother	1° CR MRD	1,9 x 10e9	8
012	AML	7yrs / 20kg	Father	1° CR MRD	2,2 x 10e9	9
013	BCP-ALL	4yrs / 22kg	Mother	2° CR	2,3 x 10e9	9
014	AML	16yrs / 55kg	Sister	1° CR MRD	2,5 x 10e9	9
015	AML	12yrs / 34kg	Mother	1° CR MRD	1,9 x 10e9	3

Per ogni paziente sono state prodotte quantità variabili di CTL a seconda del peso. Sono stati prodotti 30 lotti di CTL 12 dopo il primo ciclo di espansione e 18 dopo il secondo ciclo.

I CQ microbiologici hanno dimostrato che tutti i lotti sono risultati rilasciabili in quanto conformi in termini di sterilità assenza di micoplasma ed endotossine. I CQ biologici, vitalità, fenotipo e potency erano conformi ai cut off definiti.

	Arruolamento	Ad ogni infusione di CTL	Follow-up post trapianto
Valutazione clinica	<ul style="list-style-type: none"> • Esame obiettivo • Segni vitali • Indice Karnofsky/Lansky • Valutazione cardiaca • Test di funzionalità polmonare • Valutazione della malattia e MRD 	<ul style="list-style-type: none"> • Esame obiettivo • Segni vitali • Indice Karnofsky/Lansky • Classificazione GvHD • Eventi avversi 	<ul style="list-style-type: none"> • Esame obiettivo • Classificazione GvHD • Eventi avversi

	Arruolamento	Ad ogni infusione di CTL	Follow-up post trapianto
Valutazione di laboratorio	<ul style="list-style-type: none"> • Emocromo completo con formula leucocitaria • Profilo biochimico 	<ul style="list-style-type: none"> • Emocromo con formula leucocitaria • Profilo biochimico • Analisi chimerismo nel sangue periferico • Analisi ricostituzione immunologica nel SP 	<ul style="list-style-type: none"> • Emocromo completo con formula leucocitaria • Profilo biochimico • Valutazione della MRD nel MO

Ricostituzione immunologica

- % sottopopolazioni T,
- Treg,
- B e NK circolanti,
- cellule secernenti IFN γ in risposta alla stimolazione con LB in vitro

MRD nel MO

La valutazione della MRD sul midollo osseo sarà effettuata al basale, a +90, +180 e +360 giorni dopo l'Haplo-HCT o, in casi selezionati, in altri tempi

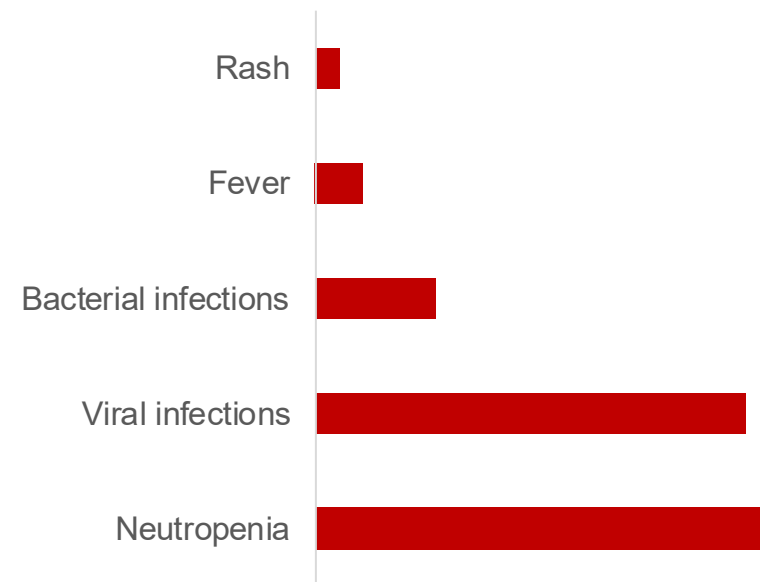
Leuk-CTL-001: eventi avversi

Nessun evento avverso grave precoce dopo l'infusione di CTL

La neutropenia è stata l'evento più comune (83% della popolazione dello studio), il grado massimo osservato è stato 4

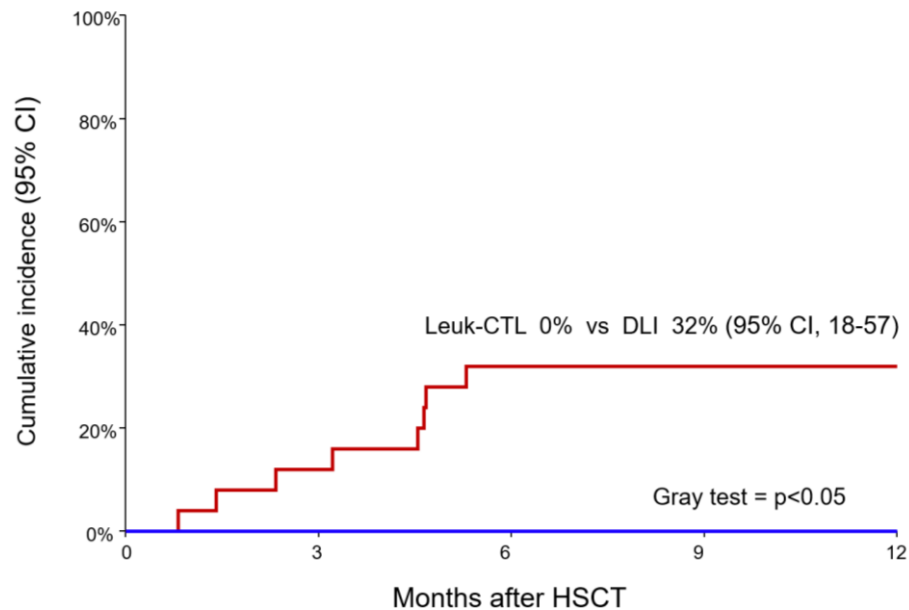
Le riattivazioni virali / infezioni sono state frequenti (83% della popolazione dello studio), ma in linea con quanto descritto per Haplo-HSCT

Nessun paziente ha avuto bisogno di cure intensive e/o interventi invasivi

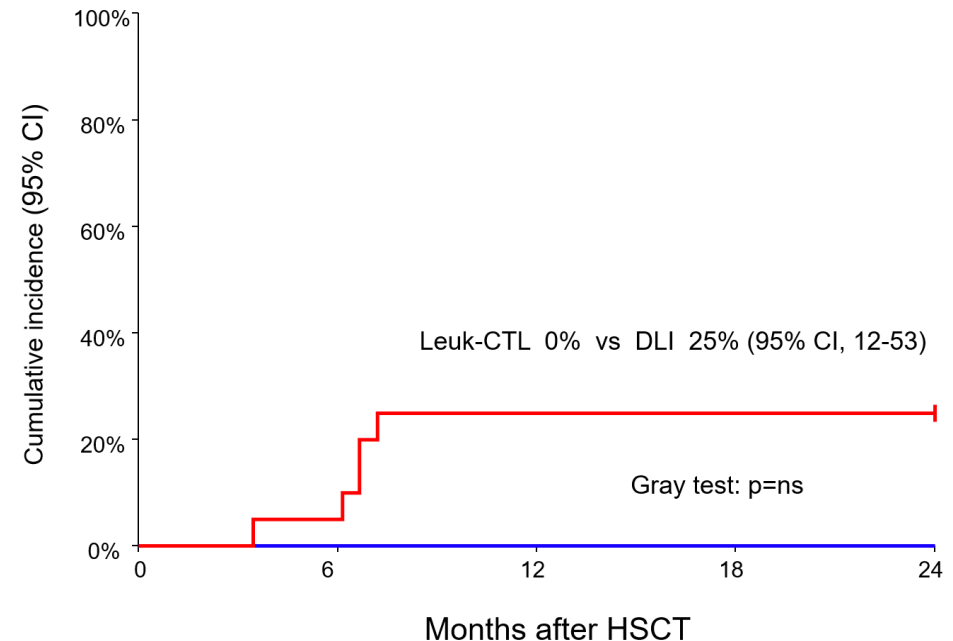


Leuk-CTL-001: insorgenza di GvHD

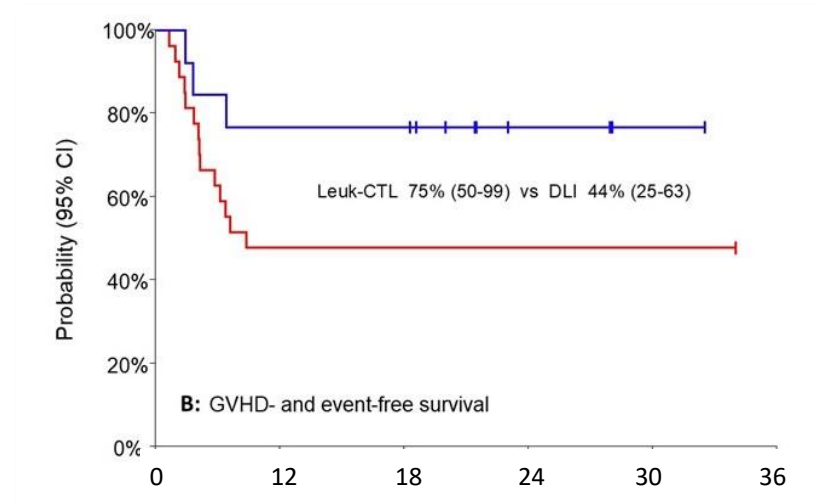
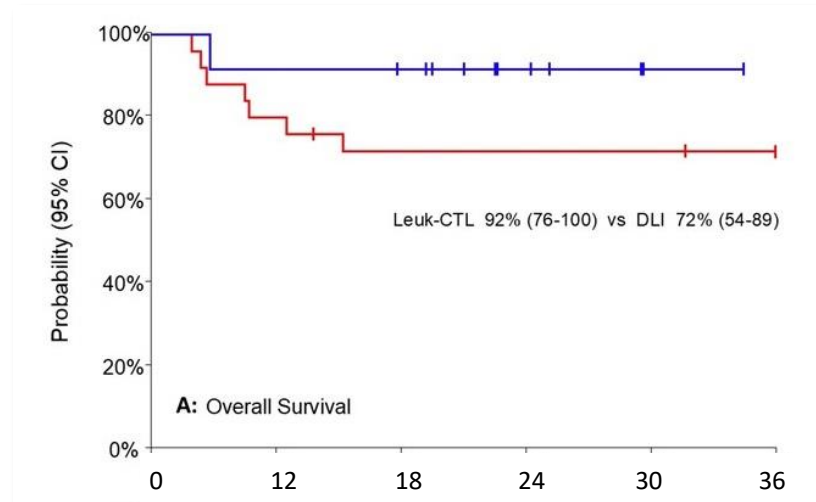
Incidenza cumulativa di GvHD acuta post-infusione dello 0% nella popolazione in studio (Leuk-CTL) rispetto al 32% della coorte DLI ($p < 0,05$)



Incidenza cumulativa di GvHD cronica pari allo 0% nella popolazione in studio (Leuk-CTL) rispetto al 25% della coorte DLI



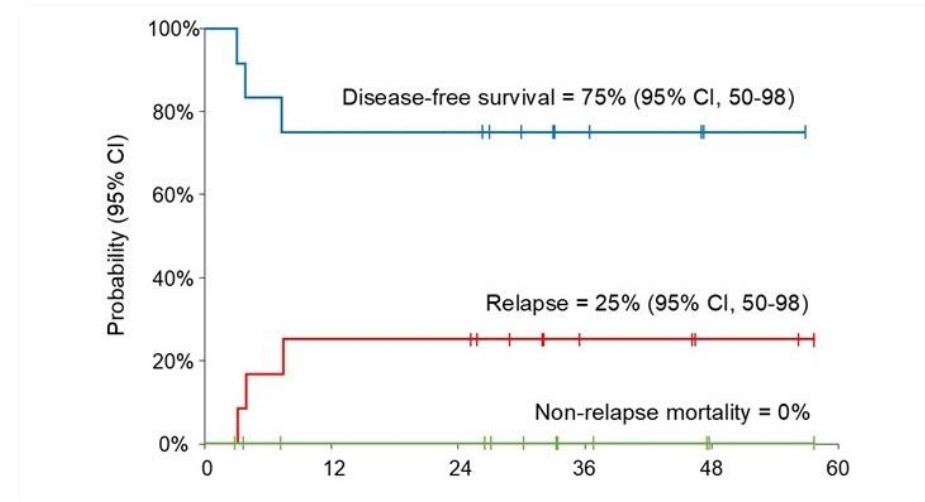
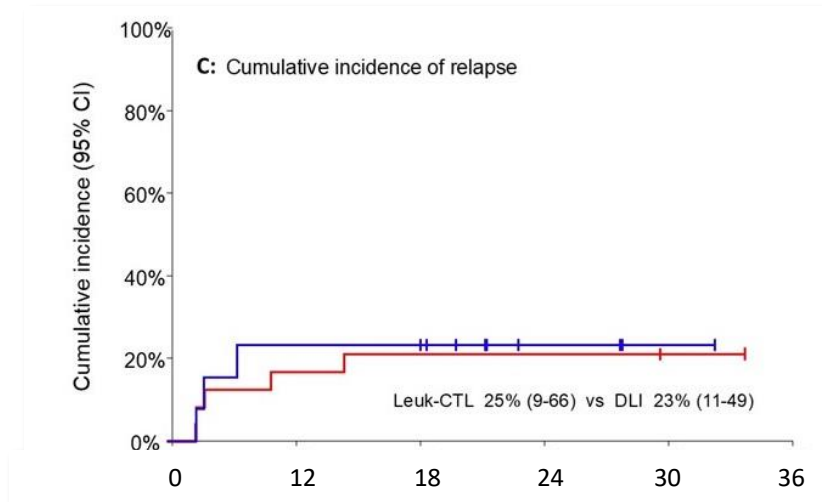
Leuk-CTL-001: Efficacy - Survival



Il tasso di sopravvivenza globale a 3 anni (OS) è stato del 92% nella popolazione dello studio rispetto al 72% della coorte DLI

La sopravvivenza libera da GvHD e da eventi avversi è stata del 75% nella popolazione in studio rispetto al 44% della coorte DLI

Leuk-CTL-001: Efficacy – Relapse

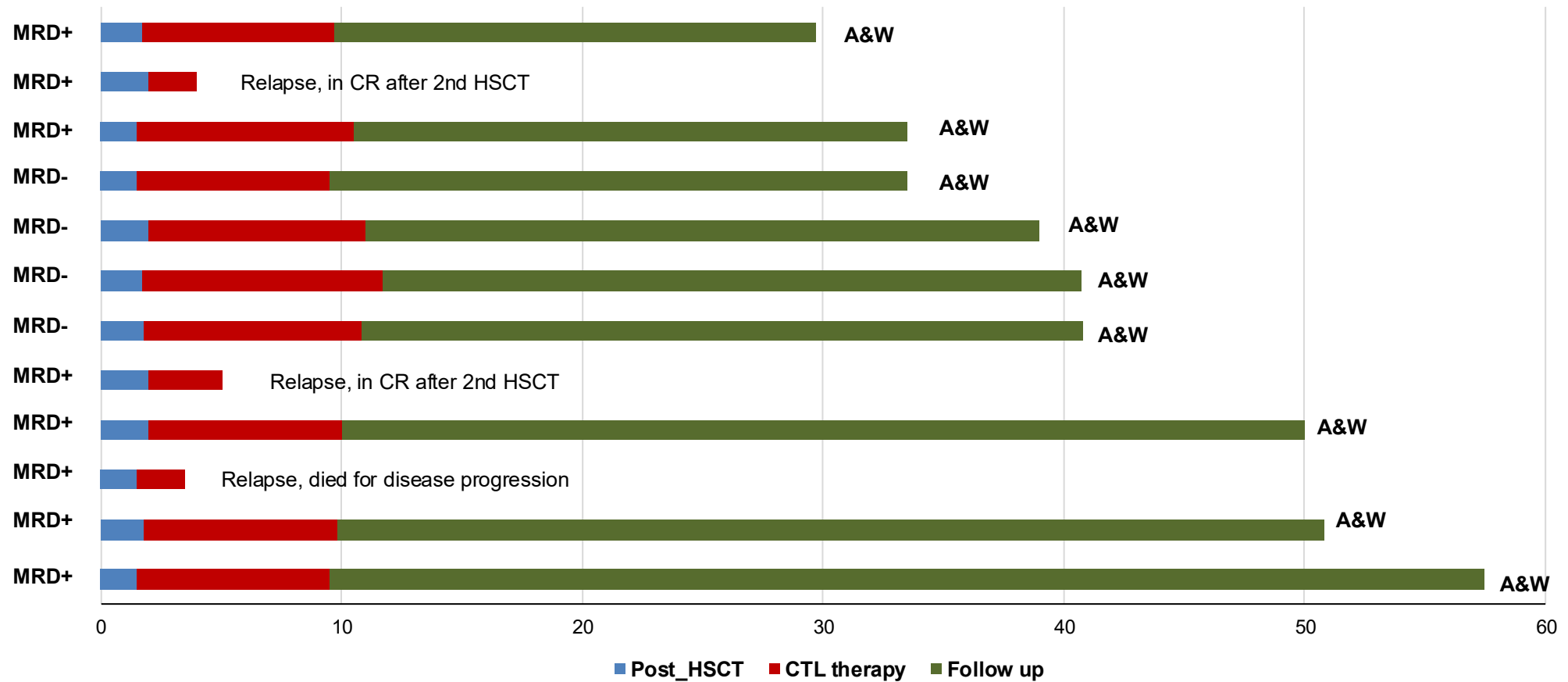


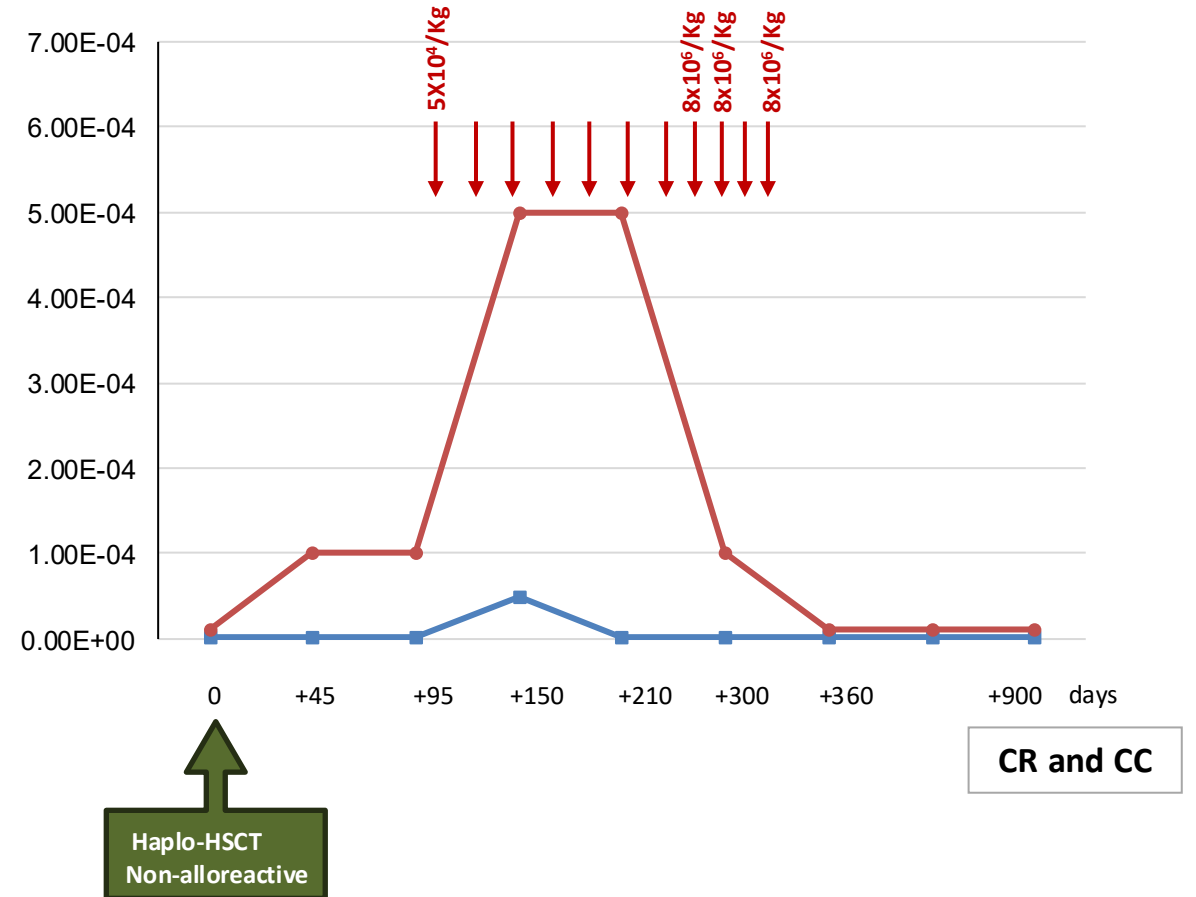
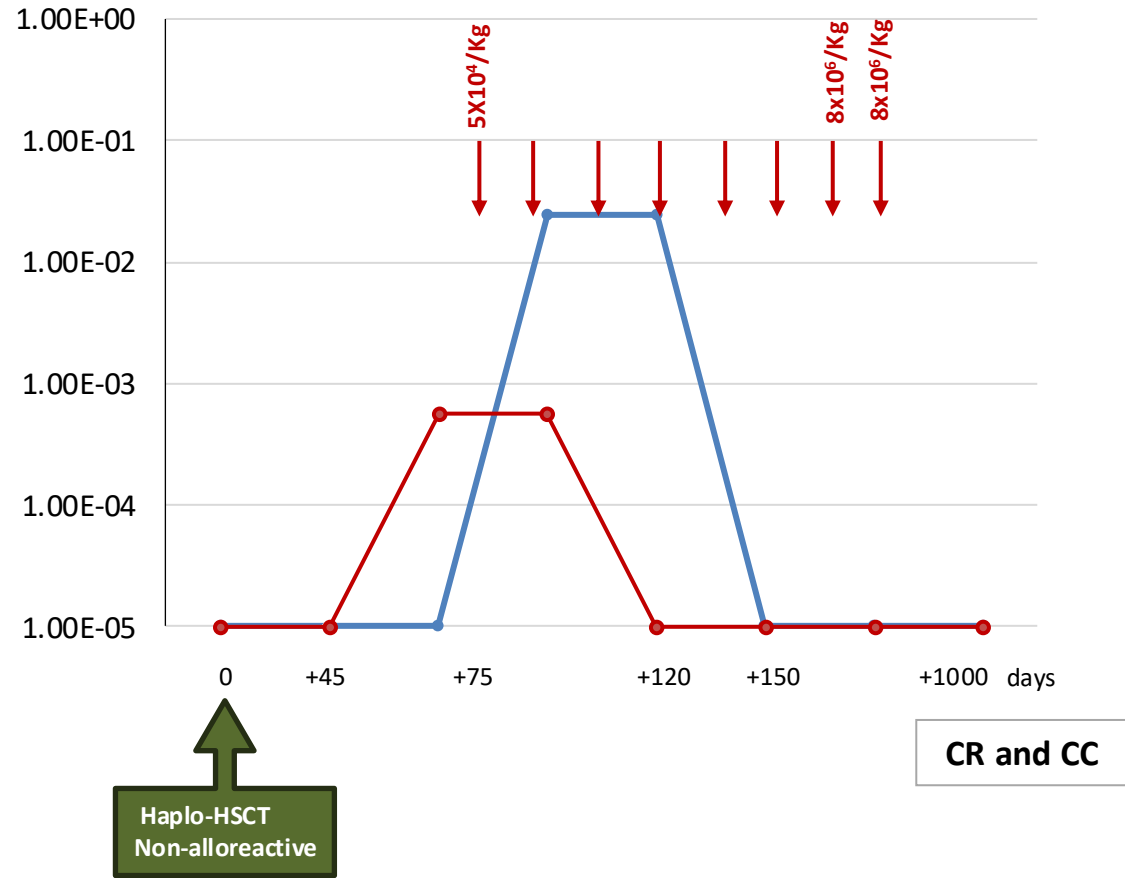
L'incidenza cumulativa di ricaduta è simile nei due gruppi (25% vs 23%)

La mortalità non correlata alla recidiva nel gruppo sperimentale è dello 0%

Patients' follow-up:

9 of the 12 patients treated are still in remission





Conclusioni

Il protocollo di produzione consente la generazione di un elevato numero di CTL con un alto livello di standardizzazione e un eccellente profilo di sicurezza

*Leuk-
CTL-001*

Profilo di sicurezza migliore dei CTL rispetto alle DLI, con minore incidenza cumulativa di GvHD

Outcome a lungo termine dei pazienti trattati con CTL favorevole, con maggiore sopravvivenza globale e sopravvivenza libera da eventi



Validazione attraverso un numero maggiore di pazienti arruolati per esplorare l'impatto di altre variabili (caratteristiche dei pazienti, stato di MRD, ecc.) e capire meglio il ruolo di queste cellule nel controllo della recidiva leucemica

Ongoing studies



Lab Immunologia/Cell Factory
Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo

Daniela Montagna
Matteo Tanzi
Enrica Montini
Giulia Rocca
Gloria Taurino

**Tutti i biologi che negli anni hanno
lavorato al progetto**

Patrizia Comoli PQ
Antonia Moretta
Eleonora Bozza
Gloria Acquafredda
Chiara Valsecchi
Daniela Barbarini
Carolina Gabetta
Stella Muscianisi

**Tutto il personale CF dedicato a CQ
biologici e microbiologici**

Oncoematologia Pediatrica

Marco Zecca
Giovanna Giorgiani
Tommaso Mina
Francesco Delle Cave
Stella Boghen
Arianna Panigari

....Tutti i medici e specializzandi

**Servizio Immunoematologia e
Medicina Trasfusionale (SIMT)**

Cesare Perotti
Gianluca Viarengo
Claudia Del Fante



Fondazione IRCCS
Policlinico San Matteo

Sistema Socio Sanitario



Regione
Lombardia

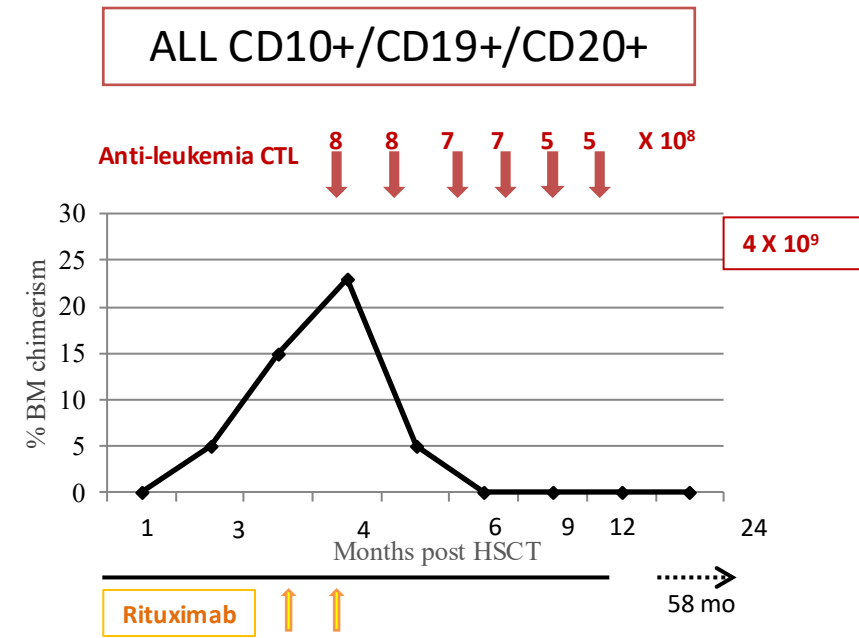
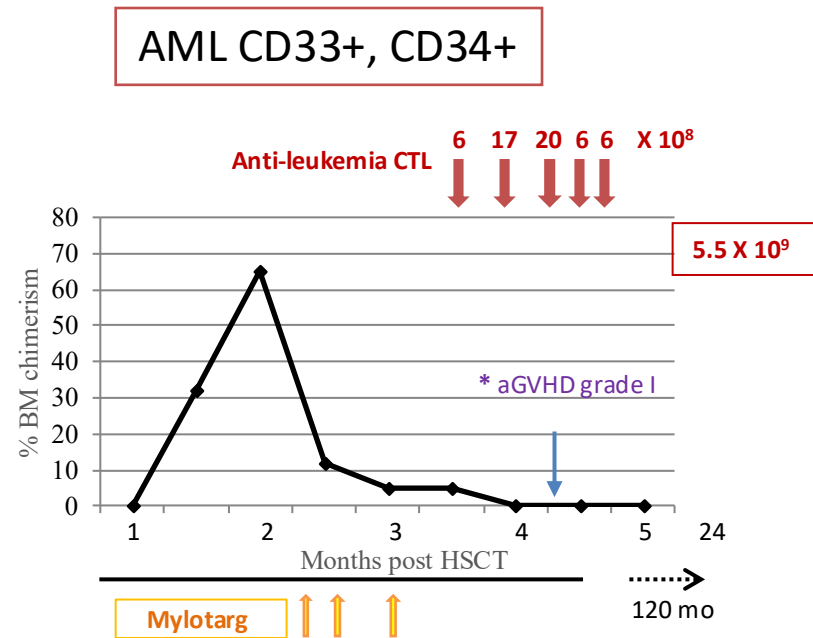


Università degli Studi di Pavia



	Disease	Age/weight	Donor	State at transplant	ACT
1	BCP-ALL	7 yrs /23 Kg	Mother	3° CR, 2nd transplant	Non-repetitive
2	BCP-ALL	8 yrs / 23 Kg	Mother	2° CR	Non-repetitive
3	BCP-ALL	7 yrs / 20 Kg	Mother	1 CR MRD	Non-repetitive
4	BCP-ALL	10 yrs / 30 Kg	Mother	1 CR MRD	ND
5	BCP-ALL	17 yrs / 47 Kg	Mother	1 CR MRD	Non-repetitive
6	AML	17 yrs / 50 Kg	Father	1 CR MRD	ND
7	AML	13 yrs / 40 Kg	Father	3° CR, 2nd transplant	Non-repetitive
8	BCP-ALL	14 yrs / 50 Kg	Father	3° CR, MRD	Non-repetitive
9	AML	10 yrs / 32 Kg	Mother	2° CR	ND
10	AML	1 yr / 9 Kg	Sister	1 CR hyperleuk	Non-repetitive
11	AML	13 yrs /35Kg	Father	3° CR, 2nd transplant	Phase I/II trial
12	T-ALL	7 yrs /22 Kg	Mother	2° CR	Phase I/II trial
13	T-ALL	7 yrs /24 Kg	Mother	2° CR	ND
14	AML	17 yrs /45Kg	Father	3° CR, 2nd transplant	Phase I/II trial
15	BCP-ALL	5 yrs /18 Kg	Father	2° CR	Phase I/II trial
16	BCP-ALL	1 yr /6 kg	Father	1 CR MRD	ND
17	BCP-ALL	15 yrs / 50 kg	Father	2° CR	ND
18	BCP-ALL	9 yrs /27Kg	Mother	2° CR	ND
19	AML	7 yrs /20 Kg	Father	1 CR MRD	Phase I/II trial
20	BCP-ALL	12 yrs /38Kg	Mother	1 CR MRD	Phase I/II trial
21	BCP-ALL	7 yrs /21 Kg	Mother	2° CR	Phase I/II trial
22	BCP-ALL	4 yrs /22 Kg	Mother	2° CR	Phase I/II trial
23	AML	16 yrs /55Kg	Sister	1 CR MRD	Phase I/II trial
24	BCP-ALL	19 yrs /79Kg	Brother	2° CR	Non-repetitive
25	AML	12 yrs /34 Kg	Mother	1 CR MRD	Phase I/II trial
26	BCP-ALL	16 yrs /38Kg	Father	1 CR MRD	Phase I/II trial

Induction of stable remission after CTL infusions in two patients early relapsed after haplo-HSCT



- Patients underwent antibody treatment, (Mylotarg or Rituximab) depending on the characteristics of LB, with the aim of reducing tumor load prior T-cell therapy.
- Infusion of high doses of anti-leukemia CTL
- No post-infusion toxicity was observed, except for a grade I/II skin GVHD in one patient.
- The two patients achieved a stable and long-term (> 5 years) molecular or hematologic complete remission after anti-leukemia T-cell therapy.

