

possíveis fatores associados à mobilização pobre de CTH definida como contagem de células CD34+ no SP do D4 < 10/ $\mu$ L durante a mobilização de CTH com G-CSF em pacientes com linfomas e mieloma múltiplo. **Material e métodos:** Foram analisados 285 prontuários de pacientes com diagnóstico de mieloma múltiplo, linfoma de Hodgkin e linfoma Não-Hodgkin candidatos à transplante de CTH autólogo, submetidos à mobilização de CTH com fator de crescimento de granulócitos (G-CSF) na dose entre 15-20 mcg/kg/dia, em um hospital público em São Paulo, entre dezembro de 2016 a agosto de 2021. Para avaliar os fatores associados à mobilização pobre (contagem de células CD34+ SP no D4 <10/ $\mu$ L), os seguintes potenciais preditores foram incluídos: sexo; idade; etnia; peso; estatura; índice de massa corpórea; diagnóstico; status da doença pré-mobilização; radioterapia prévia; número de ciclos de quimioterapia pré-mobilização; número de linhas de tratamento pré-mobilização; dosagem de G-CSF; contagem de leucócitos pré-mobilização; contagem de plaquetas pré-mobilização ( $\leq 150.000/\text{mm}^3$  ou  $>150.000/\text{mm}^3$ ); intervalo entre última quimioterapia e início da mobilização. Para avaliar a associação entre as variáveis independentes com a ocorrência do desfecho, os modelos de regressão logística uni e multivariada foram ajustados aos dados. A odds ratio (OR) juntamente com intervalos de confiança de 95% (IC95%) foram relatados. A qualidade do ajuste dos modelos foi avaliada usando o teste de Hosmer-Lemeshow e o R quadrado de Nagelkerke. O nível de significância foi fixado em 5% (valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo). A análise dos dados foi realizada usando o software R versão 4.0 (R Core Team, 2020). **Resultados:** Na análise multivariada apenas dois fatores apresentaram associação estatisticamente significativa com a contagem de células CD34+ no D4 no SP: doença refratária ou em progressão apresentou OR = 3,259 (95%IC; 1,138-9,337) e contagem plaquetária  $>150.000/\text{mm}^3$  OR = 0,473 (95%IC; 0,24-0,881). **Discussão:** Contagem plaquetária pré-mobilização  $>150.000/\text{mm}^3$  está associada a diminuição de 53% de chance de o paciente não vir a ser mobilizador pobre. Doença refratária ou em progressão está associada a um aumento de 3,5 vezes de chance do paciente ser mobilizador pobre quando comparados aos pacientes com doença com resposta completa ou parcial muito boa. **Conclusão:** A contagem plaquetária pré-mobilização é um fator associado ao sucesso na mobilização de CTH com G-CSF. Estratégias de mobilização adicionais como quimiomobilização e plerixafor devem ser reservadas para pacientes com doença em progressão ou refratária que necessitem de mobilização de CTH para realização do transplante autólogo.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.533>

#### UMA NOVA CONSTRUÇÃO DE CAR CONTRA O ANTÍGENO INTRACELULAR MAGE-A4 É CAPAZ DE LISAR CÉLULAS DE MIELOMA MÚLTIPLO

RM Silveira<sup>a</sup>, IP Furtado<sup>a</sup>, H Brand<sup>a</sup>,  
R Rossetti<sup>a</sup>, DMC Fantacini<sup>b</sup>, DT Covas<sup>b</sup>,  
LEB Souza<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP),  
Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP,  
Bras

<sup>b</sup> Núcleo de Biotecnologia, Instituto Butantan,  
Ribeirão Preto, SP, Brazil

**Objetivo:** Os receptores de antígenos quiméricos (CARs) convencionais podem reconhecer apenas antígenos de superfície celular em sua conformação nativa. Isso limita o número de alvos moleculares, pois a maioria dos antígenos associados a tumores são intracelulares. O uso de linfócitos T expressando receptores de células T (TCRs) nativos contra antígenos intracelulares é limitado pela baixa afinidade de TCRs naturais, e o aumento artificial na afinidade de TCR pode resultar em reconhecimento cruzado de antígenos próprios. Neste trabalho, relatamos o desenvolvimento de células CAR-T expressando um novo CAR capaz de reconhecer o antígeno intracelular associado ao tumor MAGE-A4 apresentado pelas moléculas HLA-A\*02, que é o sorotipo mais frequente no mundo ocidental. MAGE-A4 é um antígeno câncer/testículo expresso por diferentes neoplasias, como mieloma múltiplo (MM), melanoma e outros. **Métodos:** Construímos um vetor lentiviral de terceira geração que codifica o CAR anti-MAGE-A4:HLA-A\*02 (pLV-EF1a-MAGEA4\_CAR) por clonagem molecular. Em seguida, o vetor foi transfectado em células Lenti-X 293T com dois outros vetores acessórios para produção das partículas virais. Em seguida, os vírus foram usados na transdução de linfócitos T humanos. Para a avaliação da atividade citotóxica e especificidade, as células CAR-T resultantes foram cocultivadas com as linhagens U266 (mieloma múltiplo, MAGE-A4+) e HCT116 (carcinoma colorretal, MAGE-A4-) previamente modificadas para expressar luciferase. O cocultivo foi realizado nas proporções 1:1 e 1:2 (células-alvo: células CAR-T). **Resultados:** Obtivemos sucesso na construção e clonagem do vetor pLV-EF1a-MAGEA4\_CAR. A transfecção para montagem do vírus em células Lenti-X também ocorreu corretamente, resultando em um título viral de  $8,7 \times 10^6$  UI/mL. Após a transdução lentiviral, as células CAR-T foram cultivadas por 15 dias e constatamos que não houve alterações no crescimento, viabilidade e níveis de expressão do CAR. Durante o cocultivo com células tumorais, as células CAR-T anti-MAGE-A4 lisaram 50% e 20% das células U266 nas proporções 1:1 e 1:2, respectivamente. Ao contrário, as células HCT116 não foram lisadas, confirmando a citotoxicidade e especificidade das células CAR-T anti-MAGE-A4. **Discussão:** Estudos já demonstraram a eficácia TCR artificiais contra MAGE-A4. No entanto, o uso de TCRs artificiais é limitado devido ao risco de recombinação com as cadeias do TCR nativo. Ainda, o aumento artificial na afinidade de TCR pode resultar em reconhecimento cruzado de antígenos próprios. Nosso estudo é o primeiro a demonstrar a eficácia de um CAR contra um antígeno intracelular (MAGE-A4) em modelo de MM. **Conclusões:** Demonstramos a geração de um novo vetor lentiviral que codifica um CAR totalmente funcional capaz de redirecionar a atividade citotóxica de células T contra células de MM MAGE-A4+HLA-A\*02+. Esses resultados estabelecem as bases para o desenvolvimento de uma nova terapia celular avançada contra o MM e outras neoplasias MAGE-A4+.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.534>