

# Chimäre co-stimulatorische Switchproteine – Kampf gegen solide Tumore

Leukämie-Patienten werden bereits heute erfolgreich mit einer speziellen Form der Immuntherapie, der CAR-T Zell-Therapie, behandelt.

Prof. Dr. Elfriede Nöbner, Christina Aman, Immunanalytik-Research Group Tissue Control of Immunocytes (TCI), Helmholtz Zentrum München

Ärzte entnehmen ihren Patienten dafür T-Zellen des Immunsystems und stattdessen diese im Labor mit einem künstlichen Multifunktions-Protein aus (Chimärer Antigen-Rezeptor, CAR). Zurück im Patienten, können die so modifizierten T-Zellen ihre Beute – die Krebszellen – besser aufspüren und gezielt zerstören.

## Unterdrückendes Tumormilieu hemmt Immunzellen

Frei in der Blutbahn umhertreibende Leukämiezellen sind für die veränderten T-Zellen leicht ausfindig zu machen. Bei soliden Tumoren, die eine Geschwulst bilden, kommen sie jedoch nicht so leicht an



Prof. Dr. Elfriede Nöbner



Christina Aman

die Tumorzellen heran. Dazu müssen die T-Zellen zuerst aus dem Blutstrom auswandern und die im Gewebe versteckte Geschwulst aufspüren. Hinzu kommt, dass T-Zellen in soliden Tumoren nur für kurze Zeit aktiv sind, so als würde ihnen im Kampf gegen die Krebszellen schnell die Luft ausgehen. Die Hürden, die den T-Zellen im Kampf gegen die Krebszellen entgegenstehen, sind vielfältig (siehe Abb. 1). Zum einen gibt es aktive Inhibitionsprozesse, wie die Bindung des Tumorzell-Oberflächenproteins PD-L1 an das T-Zell-eigene Oberflächenprotein

PD-1. Diese Bindung hat zur Folge, dass die T-Zelle hemmende Signale empfängt und in ihrer Aktivität gestoppt wird. Zum anderen besteht der solide Tumor nicht nur aus Krebszellen, sondern wird von vielen weiteren Zellen umgeben – den Stromazellen –, welche die Tumorzellen wie einen Schutzwall abschirmen, sodass die T-Zellen nicht an die Tumorzellen herankommen.

Auch werden antiinflammatorische Zytokine und Chemokine gebildet, welche sowohl das Anlocken von weiteren Immunzellen in den Tumor erschweren, als auch

die Funktion der bereits vorhandenen Immunzellen blockieren. Zusammenfassend schafft der Tumor also ein ungünstiges Umfeld für das Immunsystem, in welchem T-Zellen schnell „schlappmachen“.

## Chimäre co-stimulatorische Switch Proteine (CSP)

Münchener Wissenschaftler haben nun eine Strategie entwickelt, um den Immunzellen trotz unwirtlicher Bedingungen mehr Ausdauer und Schlagkraft zu verleihen. Konkret wurden chimäre co-stimulatorische Switchproteine (CSP) entwickelt, welche aus jeweils zwei Bausteinen bestehen (Abb. 1, oben – CSP-Bausteine). Den jeweiligen Bauplan dafür erhalten die T-Zellen im Labor. Wird dieser von der T-Zelle ausgeführt, so ragt einer der Bausteine aus der Oberfläche der T-Zelle heraus und soll Signale der Tumorzellen wie eine Antenne empfangen.

Der zweite Baustein ragt in das Innere der T-Zelle hinein und wirkt wie ein Megafon, welches die empfangenen Signale in aktivierende Prozesse umwandelt. Für beide Bausteine hat die Forschungsgruppe je verschiedene Alternativen entwickelt, aus deren Kombination sich verschiedene Proteintypen zusammensetzen lassen. Drei Kombinationen werden aktuell näher untersucht.

## Oberflächenbaustein CSP Typ I: PD-1:CD28 und PD-1:BB

Der Oberflächenbaustein des CSP Typ I besteht aus dem oben beschriebenen PD-1-Protein, welches auch natürlich auf T-Zellen vorkommt. Die hemmenden Signale, welche nach Andocken an das tumorzeleigene PD-L1 in der T-Zelle entstehen, sollen durch das CSP nicht nur unterbunden, sondern sogar ausgenutzt werden, um sie in stimulierende Signale umzuwandeln. Dazu wurde die intrazelluläre Domäne des PD-1-Proteins gegen die Domäne eines anderen, aktivierenden Proteins ausgetauscht. Dieser zweite Baustein besteht aus der intrazellulären Sequenz des Co-Stimulationsproteins CD28 oder 4-1BB. Die beiden Proteine besitzen genau die gewünschten Eigenschaften, um in der T-Zelle Überlebenssignale zu aktivieren und die Funktion der T-Zelle zu verstärken. Aus der Kombination ergeben sich die beiden CSPs, PD-1:CD28 und PD-1:BB (Abb. 1, links – CSP Typ I).

Durch die verbesserte Aktivierung der T-Zellen erhoffen sich die Wissenschaftler neben der direkten Wirkung im Tumor auch einen Langzeiteffekt, der über den kurzfristigen Behandlungserfolg hinausgeht. Ziel ist die Etablierung eines Pools an Gedächtniszellen, aus welchem immer wieder T-Zellen gebildet werden, die den Tumor aktiv bekämpfen können. In Zellkulturversuchen haben die Forscher mit CSP-veränderten T-Zellen bereits vielversprechende Ergebnisse erzielt. So konnte gezeigt werden, dass die optimierten T-Zellen beim Aufeinandertreffen mit Tumorzellen in der Zellkultur höhere Aktivitätssignale zur Tumorzell-Bekämpfung lieferten. Ebenso konnte gezeigt werden, dass T-Zellen, welche aus dem Tumorgebewe von Patienten gewonnen wurden und nicht mehr funktionsfähig waren, durch die Ausstattung mit dem CSP PD-1:CD28 ihre Funktion wiederaufnehmen konnten. Im Mausmodell konnte darüber hinaus beobachtet werden, dass die Anwesenheit des chimären Proteins auf der T-Zelloberfläche zu einer stärkeren Proliferation, also einer stärkeren Vermehrung der T-Zellen, sowie zu einer besseren Tumorkontrolle führte.

## Oberflächenbaustein CSP Typ II: CD40L:CD28

Nach den vielversprechenden Ergebnissen mit den PD-1:CD28/BB-Proteinen wurde ein weiterer künstlicher Proteintyp (CSP Typ II) entwickelt, um noch mehr Hürden des Tumormilieus überwinden zu können (Abb. 1, rechts – CSP Typ II). Dazu wurde der Oberflächenbaustein PD-1 gegen das Protein CD40L ausgetauscht. CD40L interagiert mit seinem Rezeptor CD40, welcher auf Tumorzellen, aber auch auf Stromazellen, wie den Endothelzellen des Blutgefäßsystems, und auf Makrophagen im Tumormilieu vorkommt.

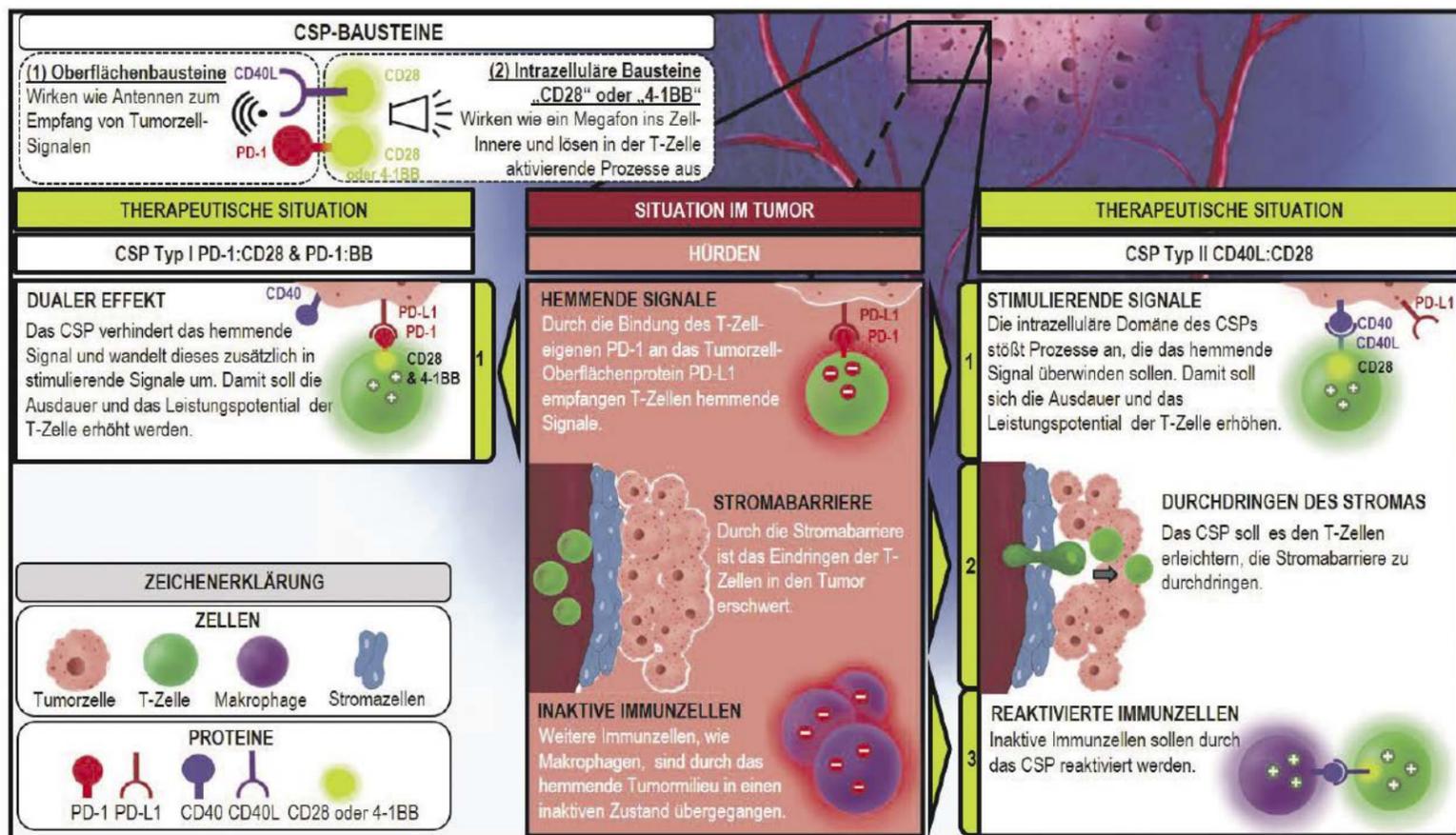
Als intrazellulärer Signalverstärker und Aktivator wurde die Sequenz des CD28-Proteins beibehalten. Daraus resultierte das neue CSP CD40L:CD28.

Zusätzlich zur Leistungssteigerung der T-Zelle, wie sie durch den CSP Typ I erreicht wird, soll der neue CD40L-Baustein das Durchdringen des Tumorstromas verbessern, damit die T-Zelle effektiver zu den Krebszellen gelangen kann. Dort angekommen, soll CD40L außerdem dafür sorgen, dass die T-Zelle andere Immunzellen wie zum Beispiel Makrophagen, welche durch das Tumormilieu in ihrer Funktion „eingeschlafen“ sind, aufweckt und zum Kampf gegen die Tumorzellen reaktiviert. Somit soll also ein Angriff von gleich mehreren Seiten erfolgen. Erste Forschungsergebnisse mit diesem CSP Typ II stimmen die Münchener Forschungsgruppe hoffnungsvoll.

## Halten die Versprechungen im Tumormilieu stand?

Nachdem die veränderten Zellen die ersten Zellkulturversuche bestanden haben, geht es nun in die nächste Testphase. Um zu zeigen, dass die im Labor herbeigeführten Verbesserungen auch im Tumormilieu bestehen können, soll die T-Zell-feindliche Tumormikroumgebung im Labor nachgebildet werden. Dafür reicht die herkömmliche Zellkultur nicht mehr aus. Stattdessen sollen nun menschliche Tumorzellen in einem 3-D-Modell wie kleine Organe gezüchtet werden, in welchen sich die harsche Tumorumgebung nachbildet. Bisher konnte bereits gezeigt werden, dass Tumorzelllinien, die als 3-D-Sphäroid gezüchtet werden, eine sehr ähnliche Struktur aufweisen, wie echtes Tumorgewebe. Mit diesen 3-D-Tumorsphäroiden soll nun gezeigt werden, dass die verbesserten T-Zellen auch, bzw. gerade unter ungünstigen Bedingungen länger in der Tumorbekämpfung aktiv sind, während herkömmliche T-Zellen schon „schlappmachen“.

Die Potenz der mit den künstlichen Proteinen ausgestatteten T-Zellen soll weiterhin in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Dr. Johannes Linxweiler vom Universitätsklinikum des Saarlandes in Tiermodellen erforscht werden. Auch wird unter einem Lizenzvertrag mit der Medigene Immunotherapeutics GmbH die mögliche therapeutische Verwendung der CSPs zur Behandlung solider Tumore geprüft. Dafür sollen firmeneigene T-Zell-Rezeptor-modifizierte T-Zellen mit dem Bauplan des PD-1:BB ausgestattet werden. Sollten die CSPs alle Tests bestehen, könnte dies ein wichtiger Schritt für die zukünftige Behandlung von soliden Tumoren sein.



Chimäre co-stimulatorische Switchproteine (CSP). Bei der Bekämpfung von soliden Tumoren stoßen T-Zellen auf einige HÜRDEN (siehe Illustration, Mitte): neben hemmenden Signalen, die von Tumorzellen ausgehen, beispielhaft gezeigt an der PD-1/PD-L1-Interaktion, erschwert die Stromabarriere das Eindringen der T-Zellen in den Tumor. Tumormiliefaktoren unterdrücken bereits im Tumor vorhandene Immunzellen, wie z. B. Makrophagen. Chimäre co-stimulatorische Switchproteine (CSP), welche aus zwei Bausteinen zusammengesetzt sind, sollen helfen, die Hürden zu überwinden. Die Bausteine sind oben links beschrieben. Die TYP-I-CSPs, bestehend aus PD-1 mit dem Costimulationsprotein CD28 bzw. 4-1BB, sowie deren postulierter Wirkmechanismus sind links beschrieben. Rechts ist ein TYP-II-CSPs, bestehend aus CD40L und CD28, mit seinen erweiterten, möglichen Wirkmechanismen illustriert.

Foto: Aman

| www.helmholtz-muenchen.de |