

## **„Designer“ T-Zellen für die Therapie von Tumorerkrankungen**

Prof. Dr. Wolfgang Uckert

Humboldt-Universität Berlin, Institut für Biologie, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Abt. Molekulare Zellbiologie und Gentherapie, Robert-Rössle-Straße 10, 13092 Berlin

T-Zellen sind ein natürlicher Teil des Immunsystems und ihre Hauptaufgabe besteht in der Erkennung und Zerstörung virusinfizierter Körperzellen. In seltenen Fällen sind T-Zellen in der Lage, auch Tumorzellen zu erkennen. Diese Spezifität lässt sich für eine Therapieform nutzen, die als adoptive T-Zelltherapie bezeichnet wird und den Transfer einer definierten T-Zellpopulation in den Patienten darstellt.

### ***T-Zellen können körperfremde Peptide erkennen.***

Die Erkennung von virusinfizierten und Tumorzellen wird durch die Fähigkeit der T-Zellen ermöglicht, körperfremde von körpereigenen Peptiden zu unterscheiden. Dafür bindet die T-Zelle mithilfe des T-Zellrezeptors (TZR) an einen Proteinkomplex, der als MHC-Komplex (*engl.* major histocompatibility complex) bezeichnet wird und der Peptide auf der Oberfläche nahezu aller Körperzellen präsentiert. Die MHC-präsentierten Peptide auf der Oberfläche vieler virusinfizierter und auch einiger Tumorzellen unterscheiden sich von denen gesunder Körperzellen und machen diese Zellen zum Ziel spezifischer T-Zellen. Wird ein präsentiertes Peptid (Antigen) als fremd erkannt, erfolgt die Aktivierung der T-Zelle und durch zytotoxische Mechanismen wird die Zerstörung der Zielzelle eingeleitet. Der für diese Erkennung notwendige TZR-Komplex besteht aus der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Kette des TZR und dem CD3-Komplex, der den TZR stabilisiert sowie die Funktion der Signalübertragung übernimmt. Die Erkennung eines Komplexes aus Peptid und MHC wird durch CD8- oder CD4-Moleküle vervollständigt, die ebenfalls zur Aktivierung der T-Zelle beitragen.

### ***Die adoptive T-Zelltherapie für Tumorerkrankungen ist schwierig.***

Durch den Transfer einer T-Zellpopulation mit einer Spezifität für definierte Virus- oder Tumorantigene ist es möglich, das Immunsystem in der Abwehr von Virusinfektionen und Tumorerkrankungen zu unterstützen. Diese T-Zellpopulationen können aus dem Blut oder Tumoren von Patienten isoliert

werden. Die Therapie mithilfe dieser T-Zellen wurde bisher erfolgreich bei der Behandlung von Erkrankungen, die durch verschiedene Viren (humanes Cytomegalievirus, Epstein-Barr Virus, humanes Immundefizienzvirus (HIV)) induziert werden, angewendet. Bei Tumorerkrankungen ist die Anwendung der adoptiven T-Zelltherapie bisher nur in wenigen Fällen erfolgreich (z.B. chronisch myeloische Leukämie, Myelom, malignes Melanom). Diese Beschränkung bei der Behandlung von Tumoren hat verschiedene Ursachen. (1) Tumorreaktive, zytotoxische T-Zellen sind häufig schwer zu isolieren, so dass nicht für alle Tumorerkrankungen spezifische T-Zellen für eine Therapie zur Verfügung stehen. Diese Problematik beruht auf der Tatsache, dass Tumorzellen nur selten als körperfremd erkannt werden und nur bedingt eine Immunantwort auslösen. (2) Aus Tumoren isolierte T-Zellen haben oft die für eine erfolgreiche Therapie notwendigen Eigenschaften verloren. (3) Die für einen adoptiven Transfer benötigte Menge an T-Zellen (100 Millionen bis 10 Milliarden je Patient) ist im vorgegebenen zeitlich begrenzten Rahmen von wenigen Tagen nur schwer zu generieren.

### ***Der Transfer von TZR-Genen ermöglicht die Generierung tumorspezifischer T-Zellen.***

Diese Einschränkungen können durch die gezielte, genetische Veränderung von T-Zellen überwunden werden. Durch den Transfer der TZR  $\alpha$ - und  $\beta$ -Kettengene in funktionelle T-Zellen des Patienten können T-Zellen mit jeder beliebigen Antigen-spezifität im Labor hergestellt und für die Therapie von Tumorerkrankungen eingesetzt werden. Die Herstellung von T-Zellen mit einer neuen Antigen-spezifität, sogenannte „Designer“ T-Zellen, ist technisch anspruchsvoll, da komplizierte molekularbiologische, immunologische und virologische Methoden angewandt werden müssen. Abbildung 1 zeigt in schematischer Darstellung den Ablauf einer adoptiven T-Zelltherapie. Aus tumorreaktiven T-Zellen können TZR-Gene isoliert werden. Um diese Gene in andere T-Zellen transferieren zu können, werden virale Vektoren (Genfähren) eingesetzt, deren Herstellung und Optimierung die nächsten Schritte der Therapie darstellen. Nach dem Gentransfer in funktionelle T-Zellen eines Patienten werden diese in ihrer Antigen-spezifität neu ausgerichteten „Designer“ T-Zellen innerhalb einer Woche angereichert und charakterisiert. Die Behandlung erfolgt durch die Infusion dieser Zellen in den Patienten. Es gibt gegenwärtig drei klinische Studien, in denen Patienten-T-Zellen durch den Transfer von melanomreaktiven TZR in ihrer Antigen-spezifität neu ausgerichtet wurden und nach adoptivem Transfer den Hautkrebs in einigen Patienten zerstören konnten. Diesen Studien in den USA werden vermutlich in Kürze weitere folgen, da die Behandlung verschiedener Tumorerkrankungen durch adoptiven T-Zelltransfer auch in anderen Ländern in Vorbereitung ist.

Abbildung 1

## **Adoptiver Transfer TZR-genmodifizierter T-Zellen zur Behandlung von Tumorerkrankungen**

### ***Ein effizienter TZR-Gentransfer und die Wahl des Zielantigens sind entscheidend für den Erfolg der adoptiven T-Zelltherapie.***

Für den Erfolg der adoptiven Therapie mit TZR-genmodifizierten T-Zellen sind zwei Faktoren von entscheidender Bedeutung. (1) Die Genfähre, mit dem die TZR-Gene in die T-Zelle übertragen werden, muss so ausgewählt werden, dass möglichst viele T-Zellen in ihrer Antigenpezifität neu ausgerichtet werden. Es wird demnach eine hohe Effektivität des Gentransfers benötigt. Allein mit einer hohen Gentransferrate lässt sich die für die adoptive T-Zelltherapie notwendige Anzahl an T-Zellen innerhalb von wenigen Tagen bereitstellen. Darüber hinaus müssen die transferierten Gene effizient exprimiert werden, da eine große Menge an TZR-Molekülen auf der Oberfläche der T-Zellen für deren Funktionalität (Antigenerkennung, Zytotoxizität, Sekretion von Zytokinen) notwendig ist. Diese Voraussetzungen werden momentan am besten von Genfähren erfüllt, die sich von  $\gamma$ -Retroviren oder Lentiviren ableiten. (2) Die Auswahl des Zielantigens, das spezifisch durch den transferierten TZR erkannt wird. Viele der bisher beschriebenen Tumorantigene sind auch in Normalzellen zu finden. Häufig macht allein die Menge des Antigens auf der Zelloberfläche den Unterschied zwischen Tumorzellen und gesundem Gewebe aus. Werden diese Selbstantigene als Zielantigene für eine adoptive T-Zelltherapie ausgewählt, besteht die Gefahr von Autoimmunreaktionen. Bisher sind nur wenige Tumorantigene beschrieben, deren Vorkommen sich ausschließlich auf das Tumorgewebe beschränkt. Diese Antigene eignen sich dann häufig nur für die Therapie einzelner Patienten.

### ***T-Zellen mit zwei TZR können unter Umständen zu Autoimmunreaktionen führen.***

Der Transfer TZR-genmodifizierter T-Zellen birgt auch Risiken, die dadurch entstehen, dass die therapeutischen T-Zellen insgesamt über vier TZR-Ketten verfügen. Jede T-Zelle besitzt einen TZR mit einer bestimmten Spezifität, der auf der Oberfläche exprimiert wird. Nach dem Transfer zusätzlicher TZR  $\alpha$ - und  $\beta$ -Kettengene sollte dieser zelleigene (endogene) TZR idealerweise verdrängt werden, um potentielle Nebenwirkungen von „Designer“ T-Zellen zu vermeiden. Dieser Prozess kann durch die gezielte Modifikationen der TZR-Gene unterstützt werden. Sollte es trotz dieser Maßnahmen nicht zur Verdrängung des endogenen TZR kommen, besteht die Gefahr, dass sich gemischte TZR-Moleküle (Hybrid-TZR) bilden, die aus einer Kombination von endogenen und den zusätzlich

eingebachten TZR-Molekülen bestehen. Hybrid-TZR könnten unerwünschte Nebenwirkungen der adoptiven T-Zelltherapie auslösen, da ihre Spezifität nicht vorherzusehen ist. Werden im ungünstigsten Fall Antigene erkannt, die auf normalen Körperzellen präsentiert werden, kann das zum Auftreten einer Autoimmunerkrankung führen. Werden die TZR  $\alpha$ - und  $\beta$ -Kettengene in eine autoreaktive aber selbstignorante T-Zelle eingebracht und ist die Verdrängung des endogenen TZR nicht vollständig, besteht die Möglichkeit, dass diese Zellen durch den zusätzlich eingebrachten TZR aktiviert werden und mit dem endogenen TZR autoaggressiv reagieren. Diese nicht auszuschließenden Nebenwirkungen machen die Entwicklung von Sicherheitsmodalitäten notwendig, um die Therapie mit der schnellen und effektiven Eliminierung der transferierten T-Zellen beenden zu können.

***Die Entartung von T-Zellen durch den Transfer von TZR-Genen ist unwahrscheinlich.***

In klinischen Studien, in denen hämatopoetische Stammzellen durch den Transfer von Genen modifiziert wurden, zeigte sich, dass die verwendeten retroviralen Vektoren auch in der Nähe eines Onkogens in das Genom der Zielzelle integrierten. Das hatte die Aktivierung des Onkogens und in letzter Konsequenz die Bildung von T-Zell-Lymphomen zur Folge. Alle bisher gewonnenen Daten weisen jedoch darauf hin, dass dieses Risiko mit großer Wahrscheinlichkeit für den TZR-Gentransfer in T-Zellen ausgeschlossen werden kann. Dies liegt unter anderem darin begründet, dass die zelluläre Proteinexpression in ausdifferenzierten T-Zellen auch nach dem Transfer zusätzlicher Gene kaum beeinflusst wird, während pluripotente Stammzellen wesentlich sensibler auf diese Veränderungen reagieren. Zudem verleihen die transferierten TZR-Gene den modifizierten T-Zellen keinen Wachstumsvorteil, was den TZR-Gentransfer zusätzlich von der oben zitierten Studie unterscheidet. Ungeachtet dessen müssen weitere Analysen zur Sicherheit viraler Genfähren und der durch sie genetisch modifizierten Zellen durchgeführt werden.

***Die Herstellung von „Designer“ T-Zellen ist kostenintensiv.***

Ein anderes Problem für die Anwendung TZR-genmodifizierter T-Zellen stellen die Kosten für deren Herstellung dar. „Designer“ T-Zellen müssen unter streng kontrollierten GMP-Sicherheitsstandards (*engl.* good manufacturing practice) in speziell dafür ausgestatteten Laboratorien konstruiert und produziert werden. Die Herstellungskosten betragen pro Patient etwa 50000 € bis 70000 €. Diese Kosten werden gegenwärtig nur unzureichend durch öffentliche oder private Förderung getragen.

