

Kampf dem Krebs mit körpereigenen Abwehrstoffen

Projektleiter

PD Dr. Bernhard Stockmeyer
Innere Medizin, Hämatologie
und Internistische Onkologie
Medizinische Klinik V
Universitätsklinikum
Erlangen-Nürnberg

Antikörper und von Antikörpern abgeleitete Therapeutika haben in den letzten Jahren in der Tumorthherapie zunehmend an Bedeutung gewonnen und sind heute fester Bestandteil der Therapie bestimmter Leukämien und Lymphome sowie einiger Formen von Brust- und Darmkarzinomen. Dabei sind nicht nur ganze, unmodifizierte Antikörper erfolgreich, sondern zunehmend auch gentechnisch abgewandelte Antikörper-Derivate. Im vorliegenden Projekt sollen neue Antikörper-Derivate mit Methoden der Gentechnik hergestellt und erprobt werden zum Einsatz gegen spezielle Formen hämatologischer Tumore, deren Behandlungserfolge mit bisherigen Therapiemöglichkeiten noch unbefriedigend sind. Die experimentellen Arbeiten liegen auf dem Gebiet der präklinischen Entwicklung neuer Wirkstoffe, die mittelfristige Zielsetzung aber ist, diese neuen Stoffe bis zum Einsatz in klinischen Studien weiter zu perfektionieren.



Antikörper sind körpereigene Eiweißmoleküle, die durch zwei strukturelle Eigenschaften gekennzeichnet sind: Zum einen besitzen sie zwei identische Bindeköpfe, die von Antikörper zu Antikörper unterschiedlich sein können und mit denen sie ihre Zielstrukturen (= Antigene) spezifisch binden. Zum anderen haben sie einen konstanten Anteil (Fc-Teil), der in einer Antikörper-Klasse identisch ist und der von spezifischen Oberflächenmolekülen, den sogenannten Fc-Rezeptoren, auf den weißen Blutkörperchen erkannt und gebunden werden kann. Antikörper üben im Organismus unterschiedliche Funktionen aus. Sie sind in der Lage, toxische Substanzen zu neutralisieren, deren Bindung an die Oberfläche von Zellen zu verhindern, Fremdkörper für die Aufnahme durch Fresszellen zu markieren (= Opsonisierung) und ein spezielles System von Plasmaproteinen (= Komplementsystem) zur Zerstörung

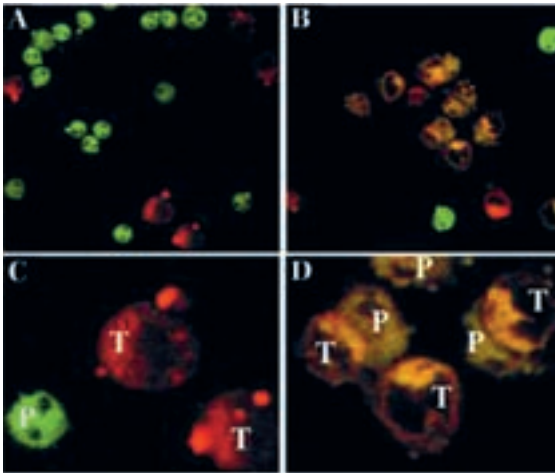
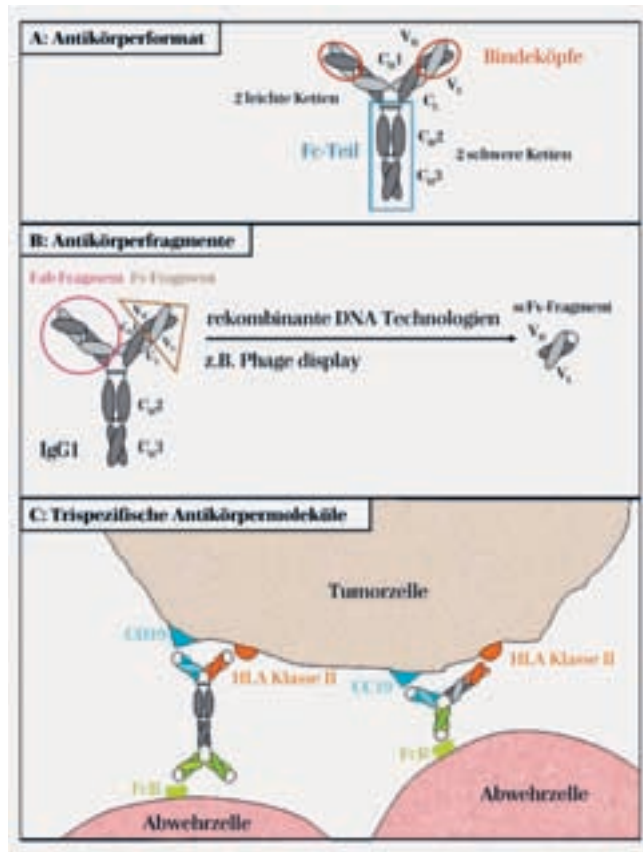


Abbildung 1: Konfokale Laser-scanning-Mikroskopieaufnahmen von Tumorzellen (T, rot) und Abwehrzellen (P, grün), in Ab- (A, C) bzw. Anwesenheit (B, D) eines Antikörpermoleküls. Ohne Antikörper liegen Tumorzellen und Abwehrzellen vereinzelt vor (A). Wogegen mit Antikörpern eine enge Kontaktaufnahme zwischen Tumorzellen und Abwehrzellen erfolgt (B). Die antikörpervermittelte Kontaktaufnahme führt zudem zu einem Farbstoffaustausch als Hinweis auf Trogozytose, welcher die Zellen gelb erscheinen lässt. C bzw. D stellen Ausschnittsvergrößerungen von A bzw. B dar.

von Mikroorganismen oder Tumorzellen zu aktivieren. Des Weiteren können sie aufgrund ihrer strukturellen Eigenschaften bösartige bzw. kranke Zellen mit Abwehrzellen des Blutes (Leukozyten) in Kontakt bringen (Abbildung 1) und so die Zerstörung der bösartigen bzw. kranken Zellen durch die Abwehrzellen einleiten. Dieser Vorgang wird antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität (kurz: ADCC) genannt. Antikörper können im Reagenzglas hergestellt werden und werden zum Teil erfolgreich in der Therapie von bestimmten Krebserkrankungen eingesetzt. Zur gezielten Verbesserung ihrer Wirkung verwenden wir nur bestimmte Fragmente der ursprünglichen Antikörper und verbinden diese z.B. durch Protein-Brücken miteinander. Durch die Anwendung rekombinanter DNA-Technologien können so die Spezifitäten unterschiedlicher Antikörper in einem Molekül kombiniert werden. Eine derartige Strategie verfolgt die Arbeitsgruppe von Herrn PD Dr. Stockmeyer in enger Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Fey in dem seit 2008 von der Stiftung geförderten Projekt mit dem Ziel, Antikörpermoleküle herzustellen, die Abwehrzellen so aktivieren, dass sie Tumorzellen erkennen und abtöten. Wie in Abbildung 2 gezeigt, werden hierzu die variablen Domänen der Bindeköpfe von zwei bzw. drei unterschiedlichen Antikörpern mit weiteren Antikörper-Bestandteilen auf DNA-Basis miteinander kombiniert. Diese DNA-Fragmente werden in geeignete Zellen transferiert, die dann Antikörpermoleküle produzieren und sezernieren, die zwei oder drei spezifische Antigene binden können; in unserem Falle die Antigene HLA Klasse II und CD19 auf der Oberfläche von malignen B-Zellen und die Fc-Rezeptoren Fc α R1 bzw.

Abbildung 2: Vereinfachte Darstellung der Antikörper-Bausteine für die trispezifischen Antikörpermoleküle. (A) Zwei strukturelle Eigenschaften ermöglichen Antikörpern, ihre vielfältigen Funktionen auszuüben: zwei identische Bindeköpfe, die für ein Antigen spezifisch sind, sowie eine konstante Domäne (= Fc-Teil), welche die Interaktion mit Abwehrzellen über sogenannte Fc-Rezeptoren (FcR) erlaubt. (B) Ein Antikörper der IgG-Klasse ist dargestellt sowie einzelne Fragmente und ihre zugehörigen Bezeichnungen. Ein scFv entsteht aus einem Fv-Fragment, dessen einzelne Bausteine (VH und VL) über eine kurze Proteinkette miteinander verbunden sind. (C) Durch die Kombination ausgewählter Bausteine verschiedener Antikörper entstehen Antikörpermoleküle mit Spezifitäten für drei verschiedene Antigene (HLA Klasse II, CD19 und FcR).



Fc γ R1 auf den Abwehrzellen. Durch das direkte Ansteuern der Fc-Rezeptoren Fc α R1 bzw. Fc γ R1 sollen polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PMN) bzw. Monozyten/Makrophagen als Abwehrzellen der angeborenen Immunität auf direktem Wege rekrutiert werden, um die Tumorzellen zu zerstören. Da das Zielantigen HLA Klasse II auch von nichtbösartigen Zellen an der Oberfläche präsentiert wird, erhoffen wir uns durch das gleichzeitige Ansteuern von CD19, einem sogenannten dualen Targeting, die Selektivität des Antikörperkonstruktes für die B-lymphoiden Tumorzellen zu erhöhen.

In Vorarbeiten hat die Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Fey bereits zeigen können, dass ein Molekül mit drei Bindeköpfen (zwei für CD19 auf der Tumor-

zelle und einer für Fc γ RIII auf der Abwehrzelle) eine wesentlich potentere antikörperabhängige Lyse von CD19-positiven Tumorzellen (Nalm-6) bewirkt als ein Antikörpermolekül mit zwei Bindeköpfen (einer für CD19 und einer für Fc γ RIII). In ihren Arbeiten konnte die Arbeitsgruppe von Herrn PD Dr. Stockmeyer mit bispezifischen Antikörpermolekülen, gerichtet gegen das Tumorantigen HLA Klasse II bzw. CD19 auf den Tumorzellen und den Fc Rezeptor Fc α RI auf PMN, *in vitro* zeigen, dass PMN eine effiziente antikörperabhängige Lyse der HLA Klasse II-positiven Tumorzellen bewerkstelligen, wogegen sie über CD19 keine antikörperabhängige Lyse vermitteln konnten. Interessanterweise verringert aber die Anwesenheit eines CD19-gerichteten Antikörpers die Fähigkeit zur Tumorzelllyse eines HLA Klasse II-gerichteten Antikörpers nicht. In den hier geförderten Experimenten soll gezeigt werden, dass das duale Targeting von CD19 und HLA-II mittels trispezifischer Moleküle in der Tat eine gesteigerte Selektivität für die Tumorzellen hat. Wir vermuten, dass diese Moleküle eine stärkere Lyse von CD19-HLA Klasse II-doppelt-positiven Zellen bewirken als von Zellen, die nur einfach-positiv für entweder HLA Klasse II oder für CD19 sind. Darüber hinaus wollen wir zeigen, dass in der Anwesenheit von einfach HLA-II oder einfach CD19-positiven Zellen die HLA-II und CD19 doppelt positiven Zellen präferenziell von Effektorzellen lysiert werden. Somit hoffen wir, zeigen zu können, dass die Kombination eines Bindekopfes für CD19 mit einem für HLA Klasse II im geplanten trispezifischen Antikörpermolekül, die Selektivität für den Tumor erhöht, ohne die Effizienz der PMN-vermittelten Zytotoxizität zu beeinträchtigen.