

Matthias Eder

Dr. sc. hum.

**<sup>68</sup>Ga markierte rekombinante Antikörperfragmente für die molekulare  
Charakterisierung und Lokalisation von Tumoren mittels Positronen  
Emissionstomographie**

Geboren am 26.11.1979 in Heidelberg

Diplom der Fachrichtung Biotechnologie am 30.09.2005 an der Hochschule Mannheim

Promotionsfach: DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum)

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. M. Eisenhut

Entgegen ihrer hohen Spezifität zeigen radioaktiv markierte, tumorselaktive monoklonale Antikörper zu früheren Zeitpunkten oftmals nur einen geringen szintigraphischen Bildkontrast. Die Ursache hierfür ist in dem hohen Molekulargewicht der Antikörper zu sehen, das eine lange Verweilzeit im Blutkreislauf bedingt und nur eine langsame Anreicherung im Tumorgewebe erlaubt. Rekombinante Antikörperfragmente weisen ein wesentlich niedrigeres Molekulargewicht auf und können wegen der daher günstigeren Pharmakokinetik mit dem kurzlebigen Positronenstrahler <sup>68</sup>Ga zu einer Verbesserung der nuklearmedizinischen Bildgebung beitragen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden mit Hilfe der Phagen-Display-Technologie neue Antikörperfragmente gegen den EGF-Rezeptor entwickelt. Eines dieser anti-EGFR Fragmente sowie ein weiteres bereits vor dieser Arbeit entwickeltes Antikörperfragment gegen EpCAM wurden in verschiedene Antikörperformate überführt. Die resultierenden scFv-Fragmente (~30 kDa), Diabodies (~55 kDa), Triabodies (~75 kDa) sowie IgGs (150 kDa) konnten mit einer in dieser Arbeit entwickelten Markierungsmethode bereits bei Raumtemperatur effizient mit <sup>68</sup>Ga markiert werden. Die Analyse der radioaktiv markierten Antikörperfragmente ließ keinen maßgeblichen Einfluss der Markierungsmethode auf die Immunbindungseigenschaften erkennen. Mittels Sektion und PET-Untersuchungen tumortragender Nacktmäuse erfolgte die Evaluierung der pharmakokinetischen Eigenschaften dieser Antikörperfragmente, die sich vornehmlich durch ihr Molekulargewicht und ihre Valenz unterscheiden. Die besten Tumor/Organ-Verhältnisse zu frühen Zeitpunkten nach Injektion wurden von scFv-Fragmenten und Diabodies erzielt, deren Molekulargewichte unterhalb der glomerulären Filtrationsschwelle liegen und somit über eine rasche renale Ausscheidung verfügten. Aufgrund der jedoch signifikant höheren Tumoranreicherung der bivalent bindenden Diabodyformate im Vergleich zu den entsprechenden monovalenten scFv-Fragmenten scheinen diese das größere Potential für eine Immun-PET-Bildgebung mit dem kurzlebigen Radionuklid <sup>68</sup>Ga aufzuweisen. Wegen der vergleichsweise niedrigen absoluten Tumoraufnahme der anti-EGFR- und insbesondere der anti-EpCAM-Formate, die im Rahmen

dieser Arbeit als Modellantikörper dienen, ist es derzeit nicht abzusehen, ob die hier verwendeten  $^{68}\text{Ga}$ -Antikörperfragmente zur Tumorsuche klinische Bedeutung erlangen werden. In diesem Zusammenhang ist viel mehr an Affibodies oder auch an andere rekombinante Proteine z.B. vom Typ Lipocalin zu denken. Dennoch ist es denkbar, dass die nicht-invasive Immun-PET-Bildgebung mit  $^{68}\text{Ga}$  markierten Antikörperfragmenten im Rahmen einer Behandlung mit therapeutischen Antikörpern wertvolle Informationen zu einer verbesserten onkologischen Therapiestrategie beitragen kann. Durch diese Arbeit konnte ferner gezeigt werden, dass  $^{68}\text{Ga}$  als Generatorkern prinzipiell geeignet ist, Zyklotron unabhängige Immun-PET- Untersuchungen zu ermöglichen.