



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

In vitro and in vivo evaluation of a high affinity ErbB4 receptor based ligand trap

Autor: Eva Jolanthe Koziolk
Institut / Klinik: Institut für Molekular- und Zellbiologie der Hochschule Mannheim
Doktorvater: Prof. Dr. M. Hafner

Krebserkrankungen zählen zu den häufigsten Todesursachen der westlichen Industrienationen. Jährlich werden mehr als 10 Mio. Neuerkrankungen diagnostiziert. Individuelle Therapieverfahren, bei denen gezielt Krebszellen abgetötet werden, gesunde Zellen jedoch unbeeinträchtigt bleiben sind dringend notwendig. Die Familie der Epidermalen Wachstumsfaktorrezeptoren und dessen aktivierende Wachstumsfaktoren konnten in diesem Zusammenhang als Schlüsselkomponenten identifiziert werden. Sie regulieren nach Aktivierung sowohl essentielle, zelluläre als auch pathophysiologische Prozesse wie z.B. Krebserkrankungen, denen eine erhöhte Zellteilungsrate zu Grunde liegt. Von der FDA bereits zugelassene monoklonale Antikörper und Tyrosinkinaseinhibitoren, die den Rezeptor direkt adressieren finden in der Klinik bereits Anwendung, jedoch ist bis dato noch kein Medikament zur Neutralisation der aktivierenden Wachstumsfaktoren (Zytokine) anerkannt. Eine neue Klasse von Therapeutika bilden die sogenannten „Zytokinfalle“, die zur Neutralisation der Zytokine eingesetzt werden können. Diese Fusionsproteine bestehen zum einen aus der extrazellulären Domäne eines Zytokinrezeptors, um dessen jeweilige Aktivator zu binden und dem konstanten Fc-Teil eines Antikörpers.

Als Ziel dieser Dissertation sollte eine Zytokinfalle in Form eines Fusionsproteins zur Neutralisation aller ErbB4 Rezeptor-spezifischen Zytokine generiert und dessen biologische Eigenschaften beschrieben werden.

Nach der Herstellung und Aufreinigung von sErbB4.497.Fc wurden zunächst die Affinitätskonstanten für die einzelnen Liganden mittels Oberflächenplasmonresonanz (SPR) und time-resolved fluorescence (TRF) bestimmt. Die Ergebnisse ergaben eine hohe Affinität zu löslichem, rekombinantem HRG- β 1 und BTC, sowie eine schwächere Affinität zu HRG- α . Der Vergleich mit sErbB4.615.Fc, das aus der vollständigen extracellulären Sequenz des ErbB4 besteht, bestätigte, dass die fast vollständige Entfernung der extrazellulären Domäne IV einen 20-100 fachen Anstieg in den jeweiligen Bindungskonstanten ergibt. Überraschenderweise konnte sErbB4.497.Fc sowohl lösliches, rekombinantes HB-EGF, als auch membrangebundenes BTC nicht binden. In *in vitro* Studien blockierte sErbB4.497.Fc teilweise sowie vollständig die Zytokin-induzierte Rezeptorphosphorylierung und -zellteilung in einer Auswahl von Brustkrebs- und Kleinzelligen Bronchialkarzinom Zelllinien. Die Daten zeigen, dass sowohl die ErbB4-spezifischen Zytokine als auch die Zytokine, die mit dem EGFR gemeinsam genutzt werden, von sErbB4.497.Fc neutralisiert werden können. Im Soft Agar Assay konnte sErbB4.497.Fc in den ausgewählten Tumorzelllinien keine Inhibierung der Kolonienbildung erzielen wohingegen im *in vivo* Modell (Maus Xenograft) die Gabe von sErbB4.497.Fc zur partiellen Verkleinerung eines Mammakarzinoms führte. Obwohl die Überlebensrate (Kaplan-Meier-Kurve) unter sErbB4.497.Fc größer war als unter mAb 528 (EGFR-spezifischer Antikörper), kam es jedoch nicht zur signifikanten Tumorverkleinerung in dem angewandten Modell.

Um sErbB4.497.Fc als Therapeutikum wettbewerbsfähig zu machen, muss zunächst eine Erhöhung der Produktionsrate erzielt werden. Für die Validierung des therapeutischen Potenzials von sErbB4.497.Fc, müssen weitere Tumoridentitäten *in vivo* auf das Ansprechen getestet werden sowie die Anwendung von Kombinationstherapien, die zusammen eine komplette Tumor Remission bewirken, anstatt lediglich eine Inhibierung des Tumorwachstums.