

Michael Maas

Dr. sc. hum.

## **Targeting Dendritischer Zellen mittels DEC205-Rezeptor-spezifischer „single chain Fragment variable“ zur Inhibition von Toleranz sowie zur Induktion von Immunität**

Promotionsfach: Dermatologie

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Karsten Mahnke

Immuntherapien stellen eine vielversprechende Strategie zur Behandlung von Tumoren dar. Dabei wird versucht die malignen Zellen durch die Induktion oder die Verstärkung einer spezifischen Immunantwort zu eliminieren. Daneben kann auch eine gleichzeitige Suppression tolerogener Komponenten des Immunsystems von Vorteil sein. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden zwei Ansätze zur Immuntherapie bzw. zu deren Unterstützung entwickelt und analysiert. Diese basierten auf dem Targeting von dendritischen Zellen (DCs) über den Endozytose-Rezeptors DEC205. Durch den Rezeptor internalisierte Antigene werden nach Prozessierung nicht nur über MHCII-Moleküle auf der Oberfläche der DCs präsentiert, sondern zusätzlich auch über einen als Kreuzpräsentation bezeichneten Mechanismus auch auf MHCI-Moleküle geladen. Dadurch können gleichzeitig  $CD4^+$  T-Zellen und die für Anti-Tumor-Immuntherapien besonders effektiven zytotoxischen  $CD8^+$  T-Zellen (CTLs) aktiviert werden.

Darüber hinaus zeichnen sich die DEC205 exprimierenden DCs dadurch aus, dass sie die Generierung von regulatorischen T-Zellen (Tregs) aus naiven  $CD4^+$  T-Zellen induzieren und somit zur peripheren Toleranz beitragen können. Immunsuppressive Tregs stellen ein Hindernis bei der Generierung einer effizienten Anti-Tumor-Immunantwort dar, weshalb es von Vorteil wäre, diese Zellen im Rahmen einer Immuntherapie zu eliminieren. Da die direkte Depletion von Tregs mittels spezifischer Antikörper nur unvollständig erreicht werden kann, wurde in einem Teilprojekt versucht über eine Eliminierung der DEC205<sup>+</sup> DCs die Induktion der Tregs zu inhibieren. Dazu wurde ein Immunotoxin, bestehend aus einem DEC205-spezifischen „single chain fragment variable“ (scFv) und daran fusioniertem Exotoxin A generiert. Diverse Experimente zeigten, dass das Konstrukt spezifisch an DCs binden und *in vitro* diese auch wirkungsvoll depletieren konnte. Dabei ließ sich deutlich eine Abhängigkeit der Depletionseffizienz von der Expression des Rezeptors auf der Zelloberfläche von DCs

nachweisen. Bei einem weiteren Teilprojekt wurden die o.g. besonderen Prozessierungs- und Präsentationsmechanismen der über DEC205-Rezeptoren internalisierten Antigene genutzt. Dazu wurden verschiedene scFv-Fusionsproteine entwickelt, bei denen der DEC205 spezifische Antikörperteil an MHCII-restringierte Tumorantigenpeptide gekoppelt wurde. Durch Targeting mit diesen Konstrukten sollten sowohl *in vitro* als auch *in vivo* dann DCs mit den Tumorantigenen beladen werden.

In der Tat konnten alle produzierten Fusionsproteine spezifisch an DCs binden, die gekoppelten Tumorantigene zur Beladung von MHCII-Molekülen bereitstellen und so spezifische CTLs induzieren, was durch Proliferationsassays sowie IFN-Elispots untermauert werden konnte. In einem murinen Melanom-Tumormodell konnte bei präventiver Vakzinierung eine deutliche Verzögerung bzw. teilweise sogar ein kompletter Schutz gegen das Wachstum der Tumore erreicht werden.

Zusammenfassend beschreibt diese Arbeit zwei innovative Strategien, bei denen das Targeting von DCs über den DEC205-Rezeptor mittels scFv-Fusionskonstrukte in verschiedener, vielversprechender Art und Weise zu einer Antitumor-Immuntherapie genutzt werden kann.