

Sandra Riedle
Dr. med.

Herstellung bispezifischer Antikörper und Evaluierung ihres Therapieerfolgs beim malignen Melanom im SCID-Maus-Modell

Geboren am 24.02.1972 in Konstanz
Reifeprüfung am 21.06.1991 in Konstanz
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1992 bis SS 1999
Physikum am 15.04.1994 an der Justus-Liebig -Universität Gießen
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Baltimore (USA) und Heidelberg
Staatsexamen am 19.05.1999 an der Ruprecht-Karls -Universität Heidelberg
Promotionsfach: Dermatologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. W. Tilgen

Bispezifische Antikörperfragmente werden in der Tumorthherapie eingesetzt, um Effektorzellen an die Tumorzelle anzukoppeln und die Effektorfunktion zu stärken. In dieser Arbeit wurde gezeigt, daß die Aktivierung und die Proliferation von Effektorzellen durch ein bispezifisches $F(ab')_2$ -Hybrid signifikant gesteigert werden kann. Diese Ergebnisse wurden an Melanomen in der humanisierten SCID-Maus getestet.

Das bispezifische $F(ab')_2$ -Hybrid wurde durch chemische Kopplung zweier Fab'-Fragmente hergestellt. Es war einerseits gegen den Oberflächenrezeptor CD3 der Lymphozyten gerichtet und andererseits gegen das melanomassoziierte Antigen p97. Das $F(ab')_2$ -Hybrid wurde in vitro auf seine duale Bindungsfähigkeit untersucht. Dabei war das bispezifische $F(ab')_2$ -Hybrid in der Lage zwischen LAK und Melanomzellen eine stabile Verbindung, eine Rosettenformation, herzustellen. Durch das $F(ab')_2$ -Hybrid wurde die Zytotoxizität der LAK gegenüber den Melanomzellen über 60% erhöht. Die durch den gegen p97 gerichteten monoklonalen Antikörper vermittelte Antikörperabhängige zellmedierte Zytotoxizität wurde um ein Vielfaches überschritten. Dabei entwickelten durch IL-2 aktivierte periphere Blutlymphozyten bei Zugabe des Konstruktes maximale lytische Aktivität gegenüber der schnell proliferierenden Melanomzelllinie BLM.

Die Effektivität des bispezifischen $F(ab')_2$ -Hybrides wurde daraufhin an humanen Melanomzellen in der humanisierten SCID-Maus überprüft. 5, 10 und 15 Tage nach der intraperitonealen Applikation von BLM-Tumorzellen wurden die Tiere mit LAK (2×10^7) und dem bispezifischen $F(ab')_2$ -Hybrid (100 µg) behandelt. Das bispezifische-Fragment wurde zusätzlich an Tag 20 und 25 injiziert. In vivo wurde durch die Therapie mit dem bispezifischen $F(ab')_2$ -Hybrid die mittlere Überlebenszeit von 22 Tagen auf über 50 Tage verlängert, wobei 3 von 8 Mäusen überhaupt keinen Tumor entwickelten. Darüberhinaus wurde durch das bispezifische $F(ab')_2$ -Hybrid die Metastasierung fast vollständig unterbunden. Die Kontrollgruppen zeigten im Gegensatz dazu in allen Fällen Metastasen am Diaphragma, in der Leber und in der Lunge. Die Effizienz des bispezifischen $F(ab')_2$ -Hybrides in vivo beruhte auf einer verlängerten Persistenz von CD8-positiven zytotoxischen Lymphozyten, aber auch auf einer Aktivierung und Expansion von CD4-positiven Helferzellen. In den Kontrollgruppen wurde dagegen keine Aktivierung von CD4-positiven Lymphozyten beobachtet. Die Aktivierung der T-Helferzellen mittels eines bispezifischen Antikörpers war unerwartet. Sie könnte entweder darauf zurückzuführen sein, daß über die gleichzeitige Bindung an die Tumorzellen eine Quervernetzung von CD3 initiiert wurde. Ebenso kann nicht ausgeschlossen werden, daß die Melanomzelllinie BLM in vivo kostimulatorische Moleküle exprimiert, die das zweite für die T-Zell-Aktivierung erforderliche Signal liefern. Der therapeutische Effekt des bispezifischen Antikörpers beruht vor allem auf der Aktivierung von T-Helferzellen, die ihrerseits über Zytokine die natürliche Immunabwehr stimulieren und somit zur Zerstörung der Tumorzellen beitragen.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, daß Proliferation und Aktivierung von zytotoxischen T-Zellen und T-Helferzellen *in vivo* durch ein bispezifisches F(ab')₂-Hybrid angestoßen werden kann, die das Wachstum eines Primärtumors und die Absiedlung von Metastasen signifikant verringern. Das bedeutet, daß das bispezifische F(ab')₂-Hybrid nicht nur Lymphozyten an Tumorzellen heranführt, sondern auch eine systemische Immunantwort aufbauen kann. Die Ergebnisse belegen die Effizienz bispezifischer Antikörper in der SCID-Maus und bieten damit einen neuen Ansatz in der Immuntherapie des malignen Melanoms.