

Wenjie Gong

Dr. med.

Optimization of adoptive immunotherapy with genetically engineered T cells

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Michael Schmitt

Trotz hervorragender Ergebnisse verschiedener adoptiver Zelltherapien kommt es zur Entwicklung von Behandlungsresistenzen und Rezidiven, wodurch der Erfolg dieser innovativen Behandlungsansätze deutlich eingeschränkt wird. Die zellulären Produkte der adoptiven Zelltherapie müssen meist vor der Transfusion in den Patienten kryokonserviert werden. Der Einfluss der Kryokonservierung auf CD19-CAR-T-Zellen für die klinische Applikation ist umstritten. Des Weiteren weist die adoptive Zelltherapie mit NY-ESO-1-spezifischen T-Zellen häufig nur ein vorübergehendes Tumoransprechen auf. Aus diesem Grund können die Optimierung von Produktionsprotokollen sowie die Modulation der Zielantigenexpression die Wirksamkeit von NY-ESO-1-spezifischen T-Zellen verbessern. Die vorliegende Arbeit besteht aus drei Teilen, um die oben genannten Punkte zu behandeln.

TEIL I: Die Auswirkungen der Kryokonservierung auf CD19-CAR-T-Zellen

Um den Einfluss der Kryokonservierung auf CD19-CAR-T-Zellen zu untersuchen, wurde die Stabilität hinsichtlich Viabilität, Erholung, Transduktionseffizienz und Funktionalität über die Zeit bestimmt. Unsere Daten zeigten, dass: (1) Niedrige Zellkonzentrationen (2×10^6 Zellen / ml) gegenüber hohen Konzentrationen für die Kryokonservierung günstig sind, um eine optimale Lebensfähigkeit und Erholung nach dem Auftauen von kryokonservierten CD19-CAR-T-Zellen zu erreichen. (2) Quantität sowie Qualität der Funktion von CD19-CAR-T-Zellen wurde durch die Kryokonservierung beeinträchtigt. (3) CAR-T-Zellen könnten nach einer Ruhepause,

die die Situation im Rahmen der klinischen Anwendung nachahmt, ihre Wirksamkeit wiedererlangen. Wir schließen daraus, dass die Kryokonservierung die Funktionalität von CAR-T-Zellen letztendlich nicht beeinträchtigt. Daher sollte in *in vitro* Wirksamkeitstests ein Ruhevorgang eingebaut werden, um die tatsächliche Wirksamkeit der zellulären Endprodukte widerzuspiegeln.

TEIL II: Optimierung der Protokolle für die Erstellung von NY-ESO-1-spezifischen T-Zellen

Die Kultivierungsprotokolle sowie die beigesetzten Interleukine, die zur Erzeugung gentechnisch veränderter T-Zellen eingesetzt werden, können einen wichtigen Einfluss auf die Qualität des Zellprodukts haben. Es wird berichtet, dass IL-7/15-basierte Produktionsprotokolle herkömmlichen IL-2-basierten Protokollen für die Erzeugung von CAR-T-Zellen überlegen sein können. Daher untersuchten wir in dieser Studie die Optimierung der Produktion von NY-ESO-1-spezifischen T-Zellen und verglichen IL-2 mit IL-7/15-basierter T-Zellkultivierung in zwei unterschiedlichen Protokollen. Unsere Daten zeigten, dass mit IL-7/15-basierten Protokollen der Prozentsatz weniger differenzierter T-Zellen, die für die Expansion der T-Zellen sowie eine anhaltende Antitumoraktivität wichtig sind, erhöhen werden kann. Dies wurde jedoch hauptsächlich in CD4⁺ -Zellen beobachtet, die bei TCR-basierten ACTs möglicherweise nicht von besonderer Bedeutung sind, da die Hauptwirkung gegenüber Tumorzellen, aufgrund der Einschränkung durch HLA-Klasse-I-Moleküle für die Antigenerkennung, von CD8⁺ Zellen vermittelt wird. Darüber hinaus führte die Kultivierung auf IL-7/15-Basis zu einer deutlich geringeren Expansion von NY-ESO-1-spezifischen T-Zellen. Wir schließen daraus, dass IL-7/15 im Vergleich zu IL-2-basierten T-Zell-Produktionsprotokollen für die Erzeugung von NY-ESO-1-spezifischen T-Zellen möglicherweise nicht überlegen ist. Änderungen des Zytokin-Cocktails sollten daher sorgfältig mit verschiedenen Vektorsystemen evaluiert und für individuelle Zwecke optimiert werden.

TEIL III: HDAC-Inhibitoren für eine verbesserte NY-ESO-1-gerichtete Immuntherapie

Adoptive Zelltherapie mit NY-ESO-1-spezifischen T-Zellen kann oft nur eine vorübergehende Tumorkontrolle erreichen. Daher haben wir zur Optimierung dieser Tumor-Immuntherapie die Kombination von HDACi mit NY-ESO-1-spezifischen T-Zellen untersucht. Unsere Daten zeigten, dass Weichteilsarkomzelllinien gegenüber HDACi empfindlich sind. Zusätzlich erhöhten sie die NY-ESO-1-Expression sowohl auf mRNA- als auch auf Proteinebene in Weichteilsarkomzellen. In der Kombination von HDACi mit NY-ESO-1-spezifischen T-Zellen konnte die Lyse von Sarkomzellen deutlich erhöht werden. Aus diesem Grund könnte die Kombination von HDACis mit ACT ein vielversprechender Ansatz zur Verbesserung der Krebsimmuntherapie bei Weichteilsarkomen sein.

Zusammengefasst konnten wir zeigen, dass Arbeiten in diesen drei Teilaspekten die Wirksamkeit von ACT im Patienten verbessern kann.