

Philipp Matthias Rößner

Dr. med.

## **Characterization of T-cells in Chronic lymphocytic leukemia and their modulation by clinically-approved targeted therapies with PI3kdelta inhibitors**

Fachgebiete/ Einrichtungen: DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum)

Doktorvater: Prof. Dr. Peter Lichter

Chronische lymphatische Leukämie (CLL) ist ein leukämisches Non-Hodgkin Lymphom reifer B-Zellen und tritt insbesondere bei älteren Patienten gehäuft auf. Da neuartige Behandlungsansätze, wie beispielsweise Immun-Checkpoint-Blockade oder bispezifische Antikörper, auf immunologischen Ansätzen basieren, gewinnt ein ausführliches Verständnis der Zusammensetzung der Tumorumgebung und des Zusammenspiels der verschiedenen Immunzellen zunehmend an Bedeutung.

Obwohl seit Jahren bekannt ist, dass die Anzahl der T-Zellen sowie die Verteilung von T-Zell Subtypen in CLL verändert ist, bleiben deren Bedeutung und daraus resultierende Auswirkungen noch unklar. Bislang haben Studien zu T-Zellen in CLL insbesondere das Patientenblut untersucht, obwohl die Aktivierung von T-Zellen in lymphatischen Organen stattfindet.

Im Rahmen dieser Studie wurden T-Zellen sowohl in einem Mausmodell für CLL, als auch in Patientenproben untersucht. Interessanterweise enthielten Blutproben von CLL Patienten sowie von leukämischen Mäusen einen höheren Anteil an Th1 CD4<sup>+</sup> T-Zellen im Vergleich zu gesunden Individuen. Weiterhin bewirkte die Leukämie eine Anreicherung von regulatorischen T-Zellen, deren immunsuppressive Funktion erhöht war. Im CD8<sup>+</sup> T-Zell-Kompartiment induzierte die CLL-Entwicklung sowohl bei Patienten als auch beim Mausmodell eine Anreicherung von Antigen-erfahrenen Effektor- und Gedächtnis-T-Zellen. Außerdem zeigten CD8<sup>+</sup> T-Zellen aus dem Patientenblut eine höhere Effektor-Aktivität im Vergleich zu Zellen aus gesundem Blut, obwohl diese gleichzeitig Marker für T-Zell Erschöpfung, wie beispielsweise PD-1, exprimierten. Um zu untersuchen, ob die Aktivität und Funktion von T-Zellen aus Lymphknoten beziehungsweise Blut von CLL Patienten sich unterscheiden, wurden gepaarte Proben aus CLL Lymphknoten und Blut

analysiert. Interessanterweise enthielten Lymphknoten weniger Effektor CD8<sup>+</sup> T-Zellen im Vergleich zu Blutproben von CLL Patienten. Außerdem zeigten CD8<sup>+</sup> T-Zellen, die aus Lymphknoten gewonnen wurden, eine höhere Expression von Aktivierungsmarkern sowie von Markern der T-Zell-Erschöpfung. Da T-Zell-Erschöpfung durch einen graduellen Verlust von Effektor-Funktionen definiert ist, wurde eine funktionelle Charakterisierung der Zellen durchgeführt. Im Rahmen dieser Analysen wurde deutlich, dass T-Zellen, die aus Lymphknoten gewonnen wurden, im Vergleich zu Zellen aus Blutproben deutlich eingeschränkt in ihrer Funktionalität waren. Ferner zeigten T-Zellen aus Lymphknotenproben ein heterogenes Expressionslevel von PD-1, das mit einer spezifischen Expression von Aktivierungsmarkern und einem Verlust an Funktionalität verbunden war.

Obwohl die Entwicklung neuer, zielgerichteter Medikamente wie beispielsweise die Blockade von BTK, BCL-2 oder PI3K $\delta$  das Therapieansprechen in CLL deutlich verbessert hat, können Patienten trotzdem nur in Ausnahmefällen von der Erkrankung geheilt werden. Weiterhin führte die therapeutische Blockade von PI3K $\delta$  durch Idelalisib zu einem erhöhten Auftreten von Infektionen und der Reaktivierung viraler Infektionen in CLL Patienten. Aus diesem Grund wurden im Rahmen dieser Studie die Nebeneffekte der PI3K $\delta$  Blockade auf T-Zellen in einem präklinischen Mausmodell von CLL untersucht.

Die Behandlung von Mäusen mit einer CLL-ähnlichen Erkrankung mit PI3K $\delta$ -Inhibitor führte zu einer bemerkenswerten Kontrolle des Krankheitsfortschritts, wie es auch bei -en beobachtet wurde. Außerdem führte die Blockade von PI3K $\delta$  zu einer verringerten Anzahl regulatorischer T-Zellen sowie zu einer Einschränkung deren immunsuppressiver Fähigkeiten. Aus diesem Grund wurde angenommen, dass der Wegfall der negativen, immunsuppressiven Einflüsse der regulatorischen T-Zellen, zu einer Erhöhung der Funktion von CD8<sup>+</sup> T-Zellen führen würde. Bemerkenswerterweise führte die Blockade von PI3K $\delta$  jedoch zu einer verminderten Differenzierung von CD8<sup>+</sup> T-Zellen zu Effektor- und Gedächtnis-T-Zellen. Außerdem war die Aktivität dieser Zellen reduziert. Ferner resultierte die PI3K $\delta$  Blockade in einer verminderten Effektorfunktion, wie beispielsweise einer reduzierten Produktion von Effektorzytokinen und zytolytischen Molekülen. Diese verminderte T-Zell-Aktivität könnte die Ursache für eine erhöhte Anzahl an Nebenwirkungen, wie bakteriellen Infektionen und die Reaktivierung viraler Infektionen sein.

Abschließend ist zu sagen, dass Chronische lymphatische Leukämie mit einer Veränderung des T-Zellkompartiments einhergeht, das eine Ansammlung erschöpfter CD8<sup>+</sup> T-Zellen in den Lymphknoten der Patienten zur Folge hat. Weiterhin sollte die klinisch-zugelassene Behandlung mit zielgerichteten Medikamenten, wie beispielsweise die Blockade von PI3K $\delta$ , gründlich untersucht werden, da als unspezifischer Effekt der Behandlung die Funktion von T-Zellen beeinträchtigt werden kann. Dies könnte eine Erklärung für die erhöhte Häufigkeit bakterieller Infektionen und der Reaktivierung viraler Infektionen bei CLL Patienten unter PI3K $\delta$  Blockade sein.