

Sanmei WANG
Dr. med.

Improvement of Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy for Patients with Hematological Malignancies

Fach/Einrichtung: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. Michael Schmitt

Chimäre Antigenrezeptor (CAR)-T-Zellen kombinieren die Wirkung von zielgerichteten Antikörpern mit der zytotoxischen Effektivität von T-Zellen und stellen eine vielversprechende Therapieoption für Patienten mit malignen Erkrankungen dar. Als besonders erfolgreich erweisen sich CAR-T-Zellen bei der Behandlung refraktärer oder rezidivierter (r/r) Erkrankungen des lymphatischen blutbildenden Systems, wie akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL), chronisch lymphatischer Leukämie (CLL) und anderen Non-Hodgkin-Lymphomen (NHL), wobei das CAR-Molekül dabei gegen das Antigen CD19 auf der Oberfläche maligner lymphatischer Zellen gerichtet ist.

Im Vergleich zur spezifischen Wirkung von CAR-T-Zellen vermitteln selektive Inhibitoren des Kernexports (*selective inhibitors of nuclear export* (SINEs)), zu denen Selinexor und Eltanexor zählen, bei der Behandlung hämatologischer Erkrankungen eine unspezifische Wirkung. Darüber hinaus erweitern neue Entwicklungen des Gen-Editings, wie etwa der Nutzung der *clustered regular interspaced short palindromic repeats* (CRISPR) / *CRISPR associated-9* (Cas9)-Technologie, die therapeutischen Möglichkeiten auch für die Behandlung von Krebspatienten.

Allerdings stellen refraktäre und relabierte Krankheitssituationen weiterhin Herausforderung der Behandlung maligner Erkrankungen dar. Mit Blick auf CD19.CAR-T-Zell-Präparate, werden häufig Antigen-negative Rückfälle durch Antigen-spezifische Selektion beobachtet. Darüber hinaus konnten die Erfolge der CD19.CAR-T-Zellen noch nicht auf andere maligne Erkrankungen, insbesondere myeloische Erkrankungen wie akuter myeloischer Leukämie (AML), übertragen werden. Dies liegt daran, dass bisher kein AML-spezifisches Zielmolekül identifiziert werden konnte, das nicht auch auf normalen hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen (HSPCs) exprimiert wird. Somit ist die CAR-T-Zell-Therapie für myeloische Erkrankungen mit einer nicht-tolerablen Myelotoxizität verbunden.

In dieser Dissertation wurden daher diese Punkte behandelt: Um das Ansprechen von r/r ALL und NHL Patienten auf CD19.CAR T-Zellen zu verbessern und das Risiko Antigen-negativer Rückfälle zu verringern, wurden im ersten Teil dieser Arbeit CAR-T-Zellen mit SINEs kombiniert. Eltanexor erwies sich dabei bei der Behandlung und Lyse von ALL- und NHL-Zellen als wirksam. Allerdings wurden auch CAR-T-Zellen bzgl. ihrer Zytotoxizität in dosisabhängiger Weise durch Eltanexor gehemmt. Dies war mit einer verminderten Expression des phosphorylierten Transkriptionsfaktors Stat3 verbunden.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden CAR T-Zellen für die Behandlung von AML evaluiert. Ausgehend von dem in unsrer Klinik etablierten CD19.CAR-Konstrukt, wurde ein CAR der dritten Generation, das sich gegen CD33 richtet, entwickelt und entsprechende CD33.CAR-T-Zellen hergestellt. Die Zytotoxizität dieser CD33.CAR-T-Zellen gegen CD33-positive AML Mv4-11-Zellen wurde gezeigt. Um CD33.CAR-T-Zellen als Behandlungsoption für AML ohne myelotoxische Nebenwirkung zu ermöglichen, wurde CRISPR / Cas9 genutzt, um CD33 auf normalen hämatopoetischen Zellen zu entfernen. Hierfür wurde zunächst das CD33-Gen in myeloischen Mv4-11-Zellen ausgeschaltet und die Resistenz dieser CD33-defizienten Zellen gegenüber CD33.CAR-T-Zellen bestätigt. Anschließend wurde CD33 in primären hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen (HSPCs) entfernt.

Zusammenfassend erweitern die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse die klinische Anwendbarkeit von CAR-T-Zellen bei hämatologischen Patienten mit lymphatischen und myeloischen Erkrankungen und tragen somit zur möglichen Verbesserung der Behandlung dieser Patienten bei.