

Zusammenfassung

Mingya Yang

Dr. med.

Enhancement of cytotoxicity, expansion and persistence of CD19.CAR-T cells via pre-sensitization of B cell malignancies by inhibitors of Bcl-2 family proteins

Fach/Einrichtung: Innere Medizin V

Doktorvater: Prof. Dr. med. Michael Schmitt

Die Therapie mit CD19-spezifischen chimären Antigenrezeptor (CAR)-T-Zellen hat die Behandlung von B-Zell-Malignomen revolutioniert. Allerdings wurde ein Krankheitsrückfall bei etwa 30% ~ 50% der Patienten beobachtet, die primär eine Remission durch die CD19.CAR-T-Zelltherapie erreichten. Daher werden neue Ansätze intensiv untersucht, die die CD19.CAR-T-Zelltherapie mit anderen Therapien kombinieren, um das Behandlungsergebnis zu verbessern. Die Apoptoseresistenz ist ein typisches Merkmal der Tumorzellen. Die Überexpression von antiapoptotischen Proteinen der Bcl-2 Familie wie Bcl-2, Mcl-1 und Bcl-xl korreliert mit der Apoptoseresistenz hämatologischer Malignome. Inhibitoren von antiapoptotischen Proteinen der Bcl-2 Familie wie ABT199 (Venetoclax) und S63845, die selektiv auf Bcl-2 bzw. Mcl-1 abzielen, können eine starke zytotoxische Wirkung auf Tumorzellen ausüben. Daher könnte die Kombination dieser Inhibitoren mit der CD19.CAR-T-Zelltherapie ein vielversprechender Ansatz zur Verbesserung der therapeutischen Effizienz sein. Da jedoch die Interaktion von Inhibitoren der Bcl-2 Familie mit den CD19.CAR-T-Zellen schädlich für CD19.CAR-T-Zellen sein könnte, wurden in dieser Studie die optimale Strategie für die Kombination von Inhibitoren und CD19.CAR-T-Zelltherapie sowie die Wirkung der Inhibitoren untersucht.

In dieser Studie wurden CD19.CAR-T-Zellen mit dem retroviralen CAR-Vektor SFG.CD19.CD28/4-1BB/ζ der dritten Generation hergestellt. Es wurden die Expression von antiapoptotischen Proteinen der Bcl-2 Familie in Leukämie-, Lymphomzelllinien und CD19.CAR-T-Zellen, die zytotoxische Aktivität von Inhibitoren auf verschiedene Zellen, sowie die Zytotoxizität von CD19.CAR-T Zellen mittels quantitativer Real-Time-Polymerase-Kettenreaktion, Western Blot, Durchflusszytometrie und Chrom-51-Freisetzungstest bestimmt. Des Weiteren wurden drei anspruchsvolle Ko-Kultursysteme mit CD19.CAR-T-Zellen und Tumorzellen unter Vorbehandlung, Simultanbehandlung oder Nachbehandlung mit Inhibitoren etabliert, um die langfristige Wirkung von Inhibitoren auf CD19.CAR-T-Zellen in Bezug auf Zytotoxizität, Expansion und Persistenz zu zeigen.

CD19.CAR-T-Zellen konnten erfolgreich transduziert werden und zeigten eine starke und spezifische zytotoxische Wirkung auf verschiedene CD19⁺ Tumorzellen. Die Inhibitoren ABT199 und S63845 zeigten eine zytotoxische Aktivität in 380-Zellen und U698M Zellen. Diese Sensitivität korrelierte mit der Expression von Bcl-2 in 380-Zellen und der Expression von Mcl-1 in U698M-Zellen.

Bei der Vorbehandlung von Tumorzellen mit ABT 199 oder S63845 wurde eine Hochregulation von CD19 und Bcl-2 auf ABT199 vorbehandelten 380 Zellen und eine erhöhten Mcl-1 Expression in S63845 vorbehandelten U698M Zellen beobachtet. Dies führte zu einer erhöhten Zytotoxizität von CD19.CAR-T-Zellen. Darüber hinaus zeigten die Daten eines Langzeit-Ko-Kulturansatzes, dass CD19.CAR-T-Zellen eine bessere Zytotoxizität, Expansion und Persistenz nach Vorbehandlung der Tumorzellen mit Inhibitoren aufwiesen. Die zeitgleiche Behandlung mit Inhibitoren und CD19.CAR-T-Zellen zeigte, dass beide Inhibitoren CD19.CAR-T-Zellen abtöten konnten und die langfristige Zytotoxizität, Expansion und Persistenz der CD19.CAR-T-Zellen beeinträchtigt wurde. Wie erwartet, beeinträchtigte auch die Behandlung mit Inhibitoren nach der CD19.CAR-T-Zell Therapie die Funktionalität der CD19.CAR-T-Zellen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine Vorbehandlung von B-Zell Malignomen mit beiden Inhibitoren die therapeutische Effizienz der CD19.CAR-T-Zelltherapie signifikant verbessern kann.