

Bailin He

Dr. sc. hum.

Blockade of CD95/CD95L Death Signaling Enhances CAR T Cell Persistence and Antitumor Efficacy

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Michael Schmitt

Trotz der ermutigenden Ergebnisse der anti-CD19 chimären Antigenrezeptor T-Zelltherapie (CAR T) bei Patienten mit B-Zell-Malignomen bleibt die Persistenz der CAR T-Zellen eine große klinische Herausforderung. CAR T-Zellen exprimieren in hohem Maße den Todesrezeptor CD95 (auch bekannt als Fas), der über eine CD95L-vermittelte Apoptose die Persistenz der CAR T-Zellen beeinträchtigen könnte. Daher wurde in dieser Arbeit untersucht, ob eine Blockierung des CD95-CD95L Signalwegs innerhalb der CAR T-Zellen die CD95L-vermittelte Apoptose verhindern und so ihre Persistenz verbessern kann.

In dieser Studie wurden CD19.CAR T-Zellen der dritten Generation von gesunden Spendern generiert. Diese CAR T-Zellen zeigten eine hohe CD95-Expression und waren suszeptibel für den CD95L-vermittelten Zelltod. Der CD95-Ligand (CD95L) wurde auf CAR-T-Zellen nach Stimulation mit Tumorzellen exprimiert, was über die Bindung an den CD95-Rezeptor zum aktivierungsinduzierten Zelltod in CAR-T-Zellen führte. Der CD95L-Inhibitor APG101, ein lösliches CD95-Fc-Fusionsprotein, schützte CAR-T-Zellen vor aktivierungsinduziertem Zelltod durch Blockade des CD95-CD95L-Signalwegs. Die CD95L-Blockade erhöhte das Überleben der CAR T-Zellen nach wiederholter Kokultur mit CD19-positiven Tumorzellen und förderte die Elimination von Tumorzellen *in vitro*. In einem weiteren Schritt wurden Fas-knockout-CD19.CAR-T-Zellen mittels Elektroporation auf Basis von CRISPR-Cas9 mit hoher Knockout-Effizienz generiert. Diese CD95-knockout CAR T-Zellen waren resistent gegen CD95L-vermittelte Apoptose. Darüber hinaus zeigten Fas-knockout CD19.CAR T-Zellen gegenüber CD19.CAR T-Zellen ohne Knockout eine verlängerte Persistenz bei wiederholter Antigenstimulation und eine überlegene Zytotoxizität gegen CD19⁺ Tumorzellen.

Insgesamt verhindert die Blockade des CD95-CD95L-Signalwegs in CD19.CAR T-Zellen durch

pharmakologische und genetische Ansätze die CD95L-vermittelte Apoptose der CAR T-Zellen und verbessert ihre Persistenz, was zu einer erhöhten Antitumor-Wirksamkeit dieser CAR T-Zellen führt. Somit könnte die Kombination der CAR T-Zelltherapie mit einem CD95L-Inhibitor die Persistenz der CAR T-Zellen *in vivo* verbessern und damit die Wirkung der CAR T-Zelltherapie bei Patienten mit rezidivierten oder refraktären hämatologischen Neoplasien verstärken.