

Mohamed Hemaïd Sayed Awwad

Dr. sc. hum.

The Effect of Elotuzumab on T cells in Patients with Multiple Myeloma

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Michael Hundemer

Trotz der Fortschritte in der immuntherapeutischen Entwicklung sind bisher nur zwei monoklonale Antikörper für die Behandlung des Multiplen Myeloms zugelassen. Einer davon ist Elotuzumab, ein spezifischer Antikörper der gegen SLAMF7. Der Wirkmechanismus von Elotuzumab ist bisher nur teilweise beschrieben, zum einen zeigt sich eine direkte zelluläre Zytotoxizität des Antikörpers gegen Zellen des Multiplen Myeloms, zum anderen eine Modulation von „natürlichen Killer Zellen“. Die Wirkung von Elotuzumab auf T-Zellen, die ebenfalls auf ihrer Oberfläche SLAMF7 exprimieren, wurde bisher nicht analysiert. Ziel meiner Arbeit war zu untersuchen, auf welchen T-Zell Populationen SLAMF7 exprimiert wird, seine Funktion in T-Zellen zu beschreiben und den Einfluss von Elotuzumab auf T-Zellen bei Patienten mit Multiplem Myelom zu demonstrieren.

Ich analysierte die SLAMF7-Expression auf T-Zellen von Patienten mit Multiplem Myelom vor und nach einer Induktionschemotherapie mit oder ohne Elotuzumab. Desweiteren verwendeten wir ein SLAMF7 CRISPR-Cas9-Knock-out-Modell, um dessen Funktion zusammen mit einem Hochdurchsatz-RNA-Transkriptom-Sequenzierungsansatz zu analysieren. Darüber hinaus habe ich umfangreiche immunologische Funktionsanalysen durchgeführt, um den Einfluss von SLAMF7-positiven T-Zellen bezüglich der Immunantwort auf Zellen des Multiplen Myeloms zu untersuchen.

Als erstes Ergebnis stellte ich fest, dass SLAMF7 auf T-Zellen, insbesondere auf CD8⁺ T-Zellen, exprimiert wurde, CD4⁺ T-Zellen zeigten dagegen nur eine geringe Expression. In weitergehenden Untersuchungen des Immunphänotyp von SLAMF7⁺ CD8⁺ T-Zellen fand ich heraus, dass diese Zellen einen ähnlichen Phänotyp wie CD8⁺ CD28⁻ CD57⁺ T-Zellen aufweisen, eine Subpopulation, die bereits als immunsuppressiv in der Literatur beschrieben wurde. Den suppressiven Charakter dieser Zellpopulation konnte ich molekularbiologisch mittels RNA-Sequenzierung weiter bestätigen.

ELISPOT-Assays mit T-Zellen von Patienten mit einer hohen und niedrigen Frequenz von SLAMF7⁺ CD8⁺ T-Zellen zeigten, dass Patienten mit einer hohen Frequenz von SLAMF7⁺ CD8⁺ T-Zellen eine schwächere zytotoxische Aktivität haben. In einem weiteren Experiment, bei dem ich T-Zellen von gesunden Spendern in An- oder Abwesenheit von SLAMF7⁺ CD8⁺ T-Zellen, die aus Myelom-Patienten isoliert wurden, kultivierte, stellte ich fest, dass die Zugabe von SLAMF7⁺ CD8⁺ T-Zellen die antigenspezifische T-Zellantwort unterdrückte. Dieses Ergebnis bestätigte den immunsuppressiven Charakter dieser T-Zellen. Mittels Analysen der SLAMF7-Expression aus dem peripheren Blut der Patienten vor und nach einer Induktionstherapie mit oder ohne Elotuzumab innerhalb der GMMG HD7 Studie konnte ich zeigen, dass eine starke Abnahme der Anzahl der SLAMF7⁺ CD8⁺ T-Zellen nach der Induktionstherapie bei Patienten die Elotuzumab erhielten, auftritt.

In Zusammenarbeit mit Heiko Bruns von der Universität Erlangen fanden wir heraus, dass die Mehrheit der SLAMF7⁺ CD8⁺ T-Zellen nach Zugabe von Elotuzumab *in vitro* von autologen Makrophagen phagozytiert wurde. Um diesen Befund *in vivo* zu bestätigen, haben Hakim Echchannaoui von der Universität Mainz und ich einen ähnlichen Ansatz in einem Myelom-Mausmodell durchgeführt. Nach der Injektion von SLAMF7⁺ CD8⁺ T-Zellen, die gegen den in diesen Mäusen etablierten Tumorklon des Multiplen Myeloms gerichtet waren, zeigten die Mäuse, die Elotuzumab erhielten, weniger tumorinfiltrierende SLAMF7⁺ CD8⁺ T-Zellen. Das bestätigte, dass auch in diesem Versuchsaufbau diese Zellen durch Elotuzumab wurden.

Meine Arbeit wirft ein neues Licht auf den immunologischen Wirkmechanismus des Anti-SLAMF7-Antikörpers Elotuzumab. Bisher ging man davon aus, dass der Anti-SLAMF7-Antikörper nur dann wirkt, wenn er direkt auf Myelomzellen abzielt oder wenn er „natürliche Killer-Zellen“ moduliert. Die in meiner Arbeit dargelegten Befunde sprechen für einen weiteren therapeutischen Mechanismus, der die Elimination von immunsuppressive T-Zellen betrifft. Dieser Mechanismus könnte für immuntherapeutische Ansätze, nicht nur beim Multiplen Myelom, sondern auch bei anderen Tumorentitäten von Bedeutung sein.