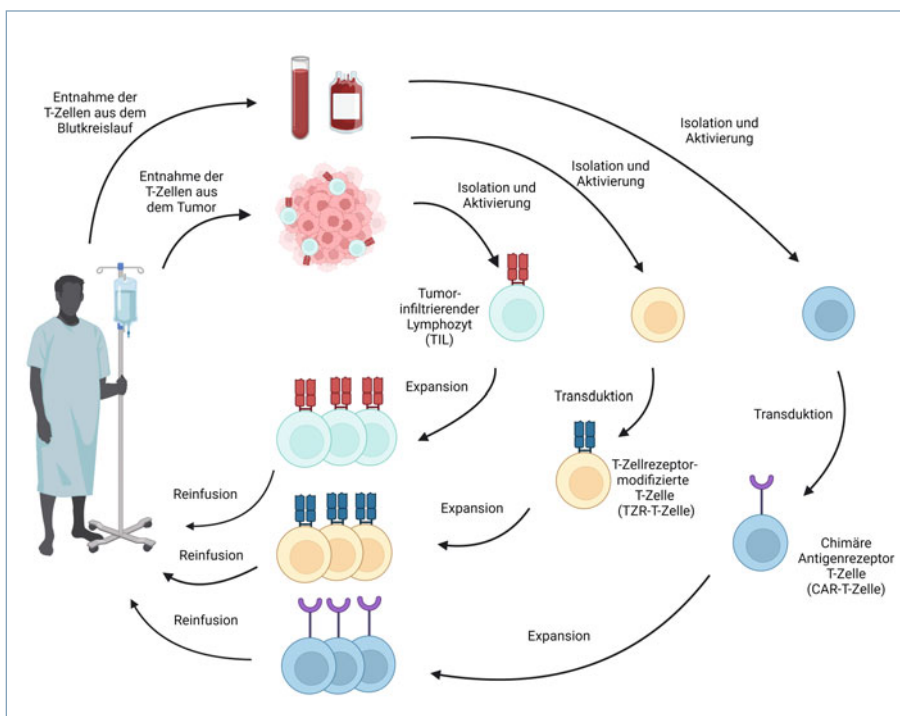


Krebsforschung

Einsatz von T-Zelltherapien in der soliden Onkologie

PHILIPP JIE MÜLLER¹, SEBASTIAN KOBOLD^{1,2}¹ ABTEILUNG FÜR KLINISCHE PHARMAKOLOGIE, MEDIZINISCHE KLINIK IV, LMU KLINIKUM MÜNCHEN² DEUTSCHES ZENTRUM FÜR TRANSLATIONALE KREBSFORSCHUNG (DKTK), PARTNERSTANDORT MÜNCHEN, EINE PARTNERSCHAFT ZWISCHEN DEM DKFZ HEIDELBERG UND DEM LMU KLINIKUM.

Lately, cellular immunotherapies have emerged as a powerful tool in treating hematological malignancies. However, these therapeutic advances have not demonstrated sustained efficacy in solid oncology yet. The reasons are multi-layered and can be brought down to the missing antigen specificity, lack of immune cell infiltration into the tumor and the hostile tumor microenvironment, rendering immune cells dysfunctional. Here, we give an overview of current problems and solutions for cellular immunotherapies in solid tumors.

DOI: 10.1007/s12268-023-2042-4
© Die Autoren 2023

▲ **Abb. 1:** Übersicht verschiedener Konzepte der adoptiven T-Zelltherapie gegen solide Tumore. Während bei der TIL-Therapie die T-Zellen direkt aus dem Tumor isoliert werden, startet die TZR- und CAR-T-Zelle-Therapie auf Basis der T-Zellen des Blutkreislaufsystems. Nach Aktivierung und genetischer Transduktion werden sie, ebenso wie TILs, expandiert sowie dem Patienten wieder infundiert. Abbildung mithilfe von Biorender.com erstellt.

■ Krebserkrankungen sind nach Erkrankungen des Kreislaufsystems auf Rang zwei der häufigsten Todesursachen in Deutschland, dies entspricht etwa 25 Prozent aller Todesfälle [1]. Die Bandbreite verfügbarer Therapieoptionen von Krebs bestand lange Zeit lediglich aus drei Säulen: Operation, Strahlentherapie und Chemotherapie. In den letzten Jahren und Jahrzehnten ist jedoch immer mehr auch das Feld der Immuntherapien in den Forschungsfokus dieser Erkrankungen gerückt. Besonders die adoptive T-Zelltherapie, als eine Form der zielgerichteten Immuntherapie, ist aus der modernen Krebsmedizin nicht mehr wegzudenken. Sie wird bereits klinisch bei definierten, fortgeschrittenen hämatologischen Erkrankungen der B-Zellreihe erfolgreich eingesetzt [2], jedoch (noch) nicht in der Behandlung von soliden Tumoren, z. B. von Dickdarmkrebs, Bauchspeicheldrüsenkrebs oder Lungenkrebs. Aus diesem Grund werden im Folgenden dieses und weitere Konzepte der zellulären Immuntherapie eingeführt. Außerdem wird begründet, weshalb – aus Sicht der Autoren – die Behandlung von soliden Tumoren bei Patient:innen davon noch nicht profitieren konnte.

Tumor-infiltrierende Lymphozyten (TIL)

Natürlicherweise sind bestimmte körpereigene Immunzellen, vor allem T-Zellen, in der Lage, mutierte Zellen des Körpers über ihren T-Zellrezeptor zu erkennen und zu töten. Dies trifft vor allen Dingen auf die T-Killerzellen zu, die im Blutkreislaufsystem, aber auch innerhalb eines Tumors, zu finden sind. Da man davon ausgeht, dass die dort aufzufindenden T-Killerzellen spezifische Krebsantigene mithilfe ihres T-Zellrezeptors erkennen können, kann man sich diesen Effekt in der Therapie der Tumor-infiltrierenden Lymphozyten (TILs) therapeutisch zunutze machen. Wie in **Abbildung 1** zu sehen, werden hierbei aus solidem Tumorgewebe die natürlicherweise dort residierenden T-Zellen isoliert, wobei bei diesem Prozess auch andere Immunzellen wie B-Lymphozyten extrahiert werden. Durch *ex vivo*-Gabe von Anti-

CD3-Antikörpern sowie Interleukin-2 werden die T-Zellen spezifisch aktiviert und expandiert sowie nach einigen Expansionszyklen wieder in den gleichen Patienten infundiert [3]. Hierbei ist anzumerken, dass die hier verwendeten TILs genetisch nicht verändert, sondern lediglich *ex vivo* „fit“ gemacht werden. In diversen klinischen Studien wird diese Therapieform bereits getestet, z. B. auch bei der Indikation des malignen Melanoms, des schwarzen Hautkrebses. Eine im vergangenen Jahr veröffentlichte Phase-III-Studie bei fortgeschrittenem Melanom zeigte, dass Patient:innen mit TIL-Therapie ein verlängertes Gesamtüberleben aufzeigten, als Patient:innen mit etablierter Anti-CTLA-4-Immuncheckpoint-Therapie [3]. Auf Basis dieser Studie ist der routinemäßige Einsatz von TIL bei Patienten mit fortgeschrittenem Melanom und Versagen einer Immuncheckpoint-Blockade in Dänemark und den Niederlanden jetzt schon möglich. Ein europaweiter Zulassungsantrag wird von der Europäischen Arzneimittelagentur derzeit geprüft.

T-Zellrezeptor-basierende Therapie (TZR-T-Zellen)

Eine weitere Form der zellulären Immuntherapien ist die T-Zellrezeptor-basierte Therapie (TZR-T-Zellen). Hierbei werden ebenfalls T-Zellen aus dem Patienten entnommen, diesmal jedoch nicht direkt aus dem Tumor, sondern aus dessen Blutkreislaufsystems. Wie wiederum in **Abbildung 1** ersichtlich wird, basiert diese Therapie auf einem neuen oder zusätzlichen T-Zellrezeptor, der den entnommenen T-Zellen *ex vivo* nach erfolgter Aktivierung ins Genom integriert wird. Folglich sind diese genetisch veränderten T-Zellen so umprogrammiert worden, dass sie ganz bestimmte HLA-präsentierte Peptide auf Tumorzellen erkennen können und folglich ihr Tötungsprogramm abspielen. Nach erfolgter Expansion der veränderten T-Zellen werden letztere per Infusion in den Patienten gegeben [4]. Im Vergleich zur vorherigen Therapieform werden hier also die T-Zellen erst durch die genetische Veränderung *ex vivo* potent gegen Tumorzellen gemacht. Das bekannteste Protein, das über HLA-Moleküle auf der Oberfläche von Tumorzellen präsentiert wird, ist z. B. das *New York esophageal squamous cell carcinoma-1* (NY-ESO-1), das mit Krebsformen wie dem Synovialzellkarzinom oder auch dem Neuroblastom,

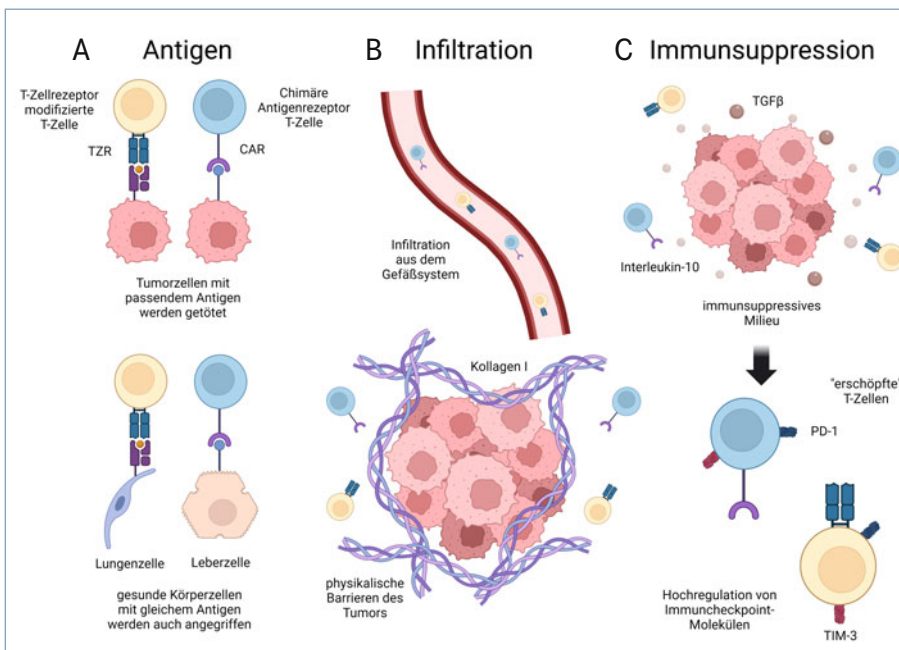
jedoch auch vielen weiteren Formen, assoziiert ist und gegen dieses bereits erfolgreiche TZR-T-Zellstudien durchgeführt wurden [4].

Chimäre Antigenrezeptor-T-Zellen (CAR-T-Zellen)

Schließlich erstreckt sich das Gebiet der zellulären Immuntherapien auch auf chimäre Antigenrezeptor-T-Zellen (CAR-T-Zellen), dessen Rezeptoren Antigene erkennen, die in ihrer nativen Form exprimiert sind. Daher ist in diesem Fall keine HLA-Präsentation von Peptiden auf Tumorzellen notwendig. **Abbildung 1** verdeutlicht hier erneut, dass auch diese Art der Immuntherapie auf den T-Zellen des Blutkreislaufsystems des Patienten basiert, die folglich wiederum *ex vivo* genetisch verändert werden. Hier tritt jedoch der T-Zellrezeptor für den CAR in den Hintergrund. Letzterer ist chimär, da es sich um einen artifiziellen, nicht natürlichen, Rezeptor handelt, der aus zwei verschiedenen Domänen aufgebaut ist: Extrazellulär findet sich die Antigenbindungsdomäne, *single chain variable fragment (scFv)*, die von einer variablen Domäne eines herkömmlichen Antikörpers stammt. Dadurch erhalten CAR-T-Zellen ihre Spezifität für ihr Antigen, in diesem Fall für ein Tumorantigen, das von den Tumorzellen exprimiert wird [5]. Diese Domäne wird über eine Art Verbindungsstück (*linker*), an die Zellmembran geknüpft. Intrazellulär findet sich Aktivierungsdomänen wie stets CD3 ζ , die die T-Zelle auf Antigenbindung aktivieren soll, damit die T-Zelle ihr standardisiertes Tötungsprogramm abspielen kann. Darüber hinaus werden in neueren Generationen von CAR-T-Zellen auch ko-stimulatorische Domänen, wie CD28 oder 4-1BB, eingefügt, um diese Aktivierung weiter zu verstärken und um langanhaltende Effekte zu erzielen [5]. Aktuell ist diese Form der zellulären Immuntherapie bereits seit 2017 von der FDA zugelassen, im Bereich definierter refraktärer hämatologischer Krebserkrankungen, wie z. B. des diffusen großzelligen B-Zell-Lymphoms. Hier wird als Tumorantigen das Protein CD19 angegriffen, das neben gesunden auch auf entarteten B-Zellen exprimiert ist [2]. Bisherige Ergebnisse bei soliden Tumorerkrankungen sind bis auf einzelne Studien, z. B. mit CAR-T-Zellen gegen das Tumorantigen Mesothelin in Kombination mit Anti-PD-1-Antikörpern, eher ernüchternd [6].

Hier steht eine Anzeige.





▲ **Abb. 2:** Aktuelle Herausforderungen bei der Behandlung solider Tumore mit T-Zelltherapien. **A,** Antigene für TZR- oder CAR-T-Zelltherapien werden typischerweise nicht nur auf Tumorzellen, sondern ebenfalls auf gesundem Gewebe, wie Lunge oder Leber, exprimiert, sodass nicht zu vernachlässigende Nebenwirkungen auftreten können. **B,** Herausforderung der mangelnden Infiltration der modifizierten T-Zellen in den soliden Tumor, die durch extrazelluläre Barrieren wie Kollagen I vermittelt werden. **C,** die im Tumor angekommenen T-Zellen werden im dortigen Mikromilieu durch lösliche Faktoren wie TGFβ oder Interleukin-10 in ihrer anti-tumoralen Funktion eingeschränkt. Diese „Erschöpfung“ der T-Zellen kann entsprechend durch Hochregulation von Immuncheckpoint-Molekülen wie PD-1 oder TIM-3 festgestellt werden. Abbildung mithilfe von Bio-render.com erstellt.

Aktuelle Herausforderungen

Wie erwähnt, hat bislang nur die CAR-T-Zelltherapie Zulassung erreicht, jedoch bisher nur bei „flüssigen“ Tumoren, also jener des Bluts und blutbildender Organe. Solide Tumore sind jedoch aus diversen Gründen noch nicht mit TILs, TZR- oder CAR-T-Zellen regulär therapierbar, wobei angenommen wird, dass hierfür vor allem drei große Herausforderungen in Zukunft noch gelöst werden müssen.

Spezifisches Antigen

Die erste große Herausforderung stellt sich im passenden Antigen als Zielstruktur dar, siehe **Abbildung 2A**. Das Protein CD19 als Zielstruktur für CAR-T-Zellen ist deshalb so erfolgreich, da dieses Protein ausschließlich auf B-Zellen und deren malignen Komponenten exprimiert ist, und B-Zellen grundsätzlich mit intravenösen Infusionen von Immunglobulinen ersetzbar sind. In der soliden Onkologie ist die Suche nach spezifischen Zielstrukturen deutlich erschwert. Tumorasoziierte Proteine, z. B. HER2/neu, haben sich als ungeeignete Zielstrukturen heraus-

gestellt, da die vorhandene Expression auf gesundem Gewebe, wie gesundem Lungengewebe oder der Haut, zu nicht zu vernachlässigenden Nebenwirkungen führt, wie erste Anwendungen am Patienten zeigten [7]. Die Suche nach einem tumorspezifischen Antigen gleicht aktuell noch der Suche nach der Nadel im Heuhaufen, jedoch konnte kürzlich gezeigt werden, dass z. B. das Gen ALPPL2 ein solches spezifisches Antigen darstellen könnte, das bei der Pleurakarzinose oder dem Eierstockkrebs überexprimiert wird [8]. Dies könnte darauf hindeuten, dass es möglich sein kann, bessere Antigene für die CAR-T-Zelltherapie zu finden, wobei diese Zielstruktur nun vor allem in einer aktuell durchgeführten Phase-I-Studie gegen Eierstockkrebs validiert wird (NCT04627740).

Erschwerte Infiltration

Neben dem passenden Antigen ist auch die Migration ein zentraler Aspekt dieser Therapieform in soliden Tumoren. Um die Überwachung durch das Immunsystem zu umgehen, entwickeln Tumorzellen Mechanismen, zytotoxische T-Zellen aus ihrem Einzugsgebiet

herauszuhalten – man spricht von einem Escape-Mechanismus, da sich der Tumor vor den T-Zellen „versteckt“. Hier spielt auch die extrazelluläre Matrix eine entscheidende Rolle, die durch Aufbau mit Kollagenen eine physikalische Barriere darstellt, durch die zytotoxische Immunzellen deutlich in ihrer Infiltration behindert werden, was auch in **Abbildung 2B** dargestellt wird [9]. Therapeutisch kann jedoch eine gezielte Migration von CAR-T-Zellen in den Tumor geschaffen werden, indem Chemokinrezeptoren zusammen mit dem chimären Antigenrezeptor auf T-Zellen überexprimiert werden. Diese Chemokinrezeptoren befördern somit die CAR-T-Zelle spezifisch zum Tumor, da hier der entsprechende Ligand für den Chemokinrezeptor überexprimiert ist. Man spricht auch von T-Zell-Migration, die sich durch das Proteinkonzentrationsgefälle des Liganden erklären lässt. Bisher gibt es bereits präklinische Studien gegen das nicht-kleinzellige Lungenkarzinom, bei denen der Chemokinrezeptor CXCR5 auf Anti-EGFR-CAR-T-Zellen überexprimiert wird, um eine verbesserte Migration in den Tumor zu induzieren, der CXCL13 produziert [10]. Die ersten beiden Phase-I-Studien werden hierbei bereits durchgeführt (NCT04153799, NCT05060796).

Lokale Immunsuppression

Schließlich angekommen im Tumorgewebe, gibt es auch hier wiederum Mechanismen, die eine effektive Tötung des entarteten Gewebes durch die T-Zelltherapie behindert. Lösliche Moleküle wie TGFβ oder Interleukin-10 werden in dieser Umgebung von Tumorzellen und anderen Stromazellen sezerniert [11]. Letztere sind mit Eigenschaften assoziiert, zytotoxische Immunzellen zu inhibieren und regelrecht zu „erschöpfen“ – man spricht hier auch von *exhaustion*. Wie auch hier in **Abbildung 2C** ersichtlich wird, werden folglich bestimmte Moleküle, die Immuncheckpoints, wie PD-1 oder TIM-3, auf diesen T-Zellen hochreguliert, die die „Erschöpfung“ anzeigen. Im Umkehrschluss heißt das auch, dass die oben erwähnten löslichen Proteine wiederum in therapeutischen Ansätzen umgangen werden können, um doch eine effiziente Tumortötung zu erzielen. Es existieren bereits Ansätze in klinischen Phase-I-Studien mit Anti-PSMA-CAR-T-Zellen, die einen dominant-negativen Rezeptor (DNR) überexprimieren, sodass das lösliche TGFβ aus der Umgebung abgefangen wird und seine tumorfördernde Wirkung verpufft [12].

Ausblick

Die adoptive T-Zelltherapie hat die Therapiemöglichkeiten von Patient:innen mit definierten hämatologischen Krebserkrankungen revolutioniert. Andererseits hat die solide Onkologie heute noch mit diversen Herausforderungen zu kämpfen, die sich auf vor allem drei Problemfelder herunterbrechen lassen: dem spezifischen Antigen, der erschwerten Infiltration von zytotoxischen T-Zellen sowie der lokalen Immunsuppression dergleichen. Aktuell werden weltweit jedoch bereits innovative, neuartige Konzepte entwickelt, um diese Herausforderungen anzugehen. Es ist daher zu erwarten, dass sich in den kommenden Jahren zumindest einzelne Ansätze in definierten Krebserkrankungen durchsetzen werden.

Danksagung

SK wird unterstützt vom International Doctoral Program „i-Target: Immunotargeting of cancer“ funded by the Elite Network of Bavaria, von der Melanoma Research Alliance (grant number 409510), dem Marie-Sklodowska-Curie „Training Network for the Immunotherapy of Cancer (IMMUTRAIN)“ funded by the H2020 program of the European Union, dem Marie-Sklodowska-Curie Program Training Network for Optimizing Adoptive T Cell Therapy of Cancer funded by the H2020 Program of the European Union (Grant 955575), der Else Kröner-Fresenius-Stiftung (IOLIN), der Deutschen Krebshilfe (AvantCAR.de), der Ernst-Jung-Stiftung, der Go-Bio-Initiative, dem m4-Award of the Bavarian Ministry for Economical Affairs, vom Bundesministerium für Bildung und Forschung, European Research Council (Starting Grant 756017 and PoC Grant 101100460), Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG; KO5055-2-1 and 510821390), by the SFB-TRR 338/1 2021-452881907, Fritz-Bender Foundation, Deutsche José Carreras Leukämie Stiftung, Hector Foundation, Bavarian

Research Foundation (BAYCELLATOR), the Bruno and Helene Jöster Foundation (360° CAR).

PJM wurde unterstützt vom Mildred-Scheel-Doktorandenprogramm der Deutschen Krebshilfe.

Alle Abbildungen wurden auf Biorender.com erstellt in Verbindung mit einem akademisch bezahlten Abonnement. ■

Literatur

- [1] Mattiuzzi C, Lippi G (2019) Current Cancer Epidemiology. *J Epidemiol Glob Health* 9: 217–222
- [2] Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL et al. (2017) Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med* 377: 2531–2544
- [3] Rohaan MW, Borch TH, van den Berg JH et al. (2022) Tumor-Infiltrating Lymphocyte Therapy or Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med* 387: 2113–2125
- [4] Robbins PF, Morgan RA, Feldman SA et al. (2011) Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1. *J Clin Oncol* 29: 917–924
- [5] Rafiq S, Hackett CS, Brentjens RJ et al. (2020) Engineering strategies to overcome the current roadblocks in CAR T cell therapy. *Nat Rev Clin Oncol* 17: 147–167
- [6] Adusumilli PS, Zauderer MG, Riviere I et al. (2021) A Phase I Trial of Regional Mesothelin-Targeted CAR T-cell Therapy in Patients with Malignant Pleural Disease, in Combination with the Anti-PD-1 Agent Pembrolizumab. *Cancer Discov* 11: 2748–2763
- [7] Morgan RA, Yang JC, Kitano M et al. (2010) Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. *Mol Ther* 18: 843–851

- [8] Su Y, Zhang X, Bidlingmaier S et al. (2020) ALPPL2 Is a Highly Specific and Targetable Tumor Cell Surface Antigen. *Cancer Res* 80: 4552–4564
- [9] Sun X, Wu B, Chiang HC et al. (2021) Tumour DDR1 promotes collagen fibre alignment to instigate immune exclusion. *Nature* 599: 673–678
- [10] Li G, Guo J, Zheng Y et al. (2021) CXCR5 guides migration and tumor eradication of anti-EGFR chimeric antigen receptor T cells. *Mol Ther Oncolytics* 22: 507–517
- [11] Mirlekar B (2022) Tumor promoting roles of IL-10, TGF- β , IL-4, and IL-35: Its implications in cancer immunotherapy. *SAGE Open Med* 10: 20503121211069012
- [12] Narayan V, Barber-Rotenberg JS, Jung IY et al. (2022) PSMA-targeting TGF β -insensitive armored CAR T cells in metastatic castration-resistant prostate cancer: a phase 1 trial. *Nat Med* 28: 724–734

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Univ.-Prof. Dr. med. Sebastian Kobold
 LMU Klinikum München
 Abteilung für Klinische Pharmakologie
 Medizinische Klinik IV
 Lindwurmstraße 2a
 D-80337 München
 sebastian.kobold@med.uni-muenchen.de

AUTOREN



Philipp Jie Müller

Jahrgang 2001. Seit 2018 Studium der Humanmedizin, LMU und TU München. Seit 2021 experimentelle medizinische Promotion im Bereich der Immunonkologie am LMU Klinikum. Seit Anfang 2022 studentischer bzw. zweiter studentischer Sprecher des i-Target Doktorandennetzwerks, das Immunonkologie-Labore in München und Erlangen durch engen wissenschaftlichen Austausch zusammenbringt.



Sebastian Kobold

Jahrgang 1983. Approbation 2007. Promotion zum Dr. med. 2010. Facharztweiterbildung und PostDoc in Boston, Hamburg und München. Habilitation und Facharztanerkennung zum klinische Pharmakologen 2014, ebenso die Anerkennung als Fachimmunologe (DGF). Seit 2019 W2-Professor an der LMU und stv. Direktor der Abteilung für Klinische Pharmakologie am LMU Klinikum.