

Hirntumorimmunologie-Programm

Projekt (8.12.2019)

Denis Migliorini, MD, Universität Genf

Unbefriedigter Bedarf

Hirntumore sind bekanntermaßen schwierig zu behandeln. Das Gliom ist der häufigste primäre Tumor des Zentralnervensystems (ZNS). Der Phänotyp ist aggressiv und die Prognose schlecht. Der gegenwärtige Pflegestandard für neu diagnostizierte Glioblastom- (GBM) Patienten (WHO Grad IV Gliom) beinhaltet maximale sichere Chirurgie und Radiochemotherapie mit Temozolomid, mit oder ohne begleitende Behandlung mit Tumortheraiefeldern. Mit dieser multimodalen Therapie wird eine Lebenserwartung von weniger als 2 Jahren erreicht. Für Rezidive gibt es keine Standardtherapie und die Lebenserwartung beträgt weniger als 9 Monate.

Dank intensiver Forschung konnte in den letzten zehn Jahren das molekulare Profil von hochgradigen Gliomen gründlich charakterisiert werden. Leider konnten daraus bisher keine wirkungsvollen neuen Therapien entwickelt werden. Aus diesem Grund besteht in dieser Patientenpopulation immer noch ein bedenklicher, unbefriedigter therapeutischer Bedarf.

Onkoimmunologie bei soliden Tumoren

Der jüngste Durchbruch mit Therapien, die sich das Immunsystem zunutze machen, hat zu einem Paradigmenwechsel in der Behandlung von Patienten, die an verschiedenen soliden Tumoren leiden, geführt. So ist die Immun-Checkpoint-Blockade (ICB) heute die Standardbehandlung bei Melanom, Lungenkrebs, Nierenzellkarzinom, MSI-H Kolorektalkarzinom, etc. Dieser Ansatz wurde in klinischen Studien für Gliome getestet, erfüllte aber die Erwartungen bei systemischer Anwendung, alleine oder in Kombination mit vorhandenen Standardtherapien, leider nicht. Eine vielversprechende Ausnahme stellt allerdings die Verwendung einer ICB im Rahmen einer neoadjuvanten Therapie dar.

Bisherige Erfolge mit Peptidimpfstoffen für Gliome

Unsere und andere Gruppen haben einen wichtigen Beitrag in Bezug auf die Verwendung von immunbasierten Therapien für Gliome geleistet; insbesondere was die Identifizierung von überexprimierten Zelloberflächenmarkern von GBMs *in vivo* und die Entwicklung von multiepitopischen Impfungen mit synthetischen Peptiden anbelangt¹.

Unsere Forschung wurde in einer frühen Erprobungsphase in die Klinik übertragen: 19 Patienten mit neu diagnostizierten GBM-Tumoren wurden mit dem IMA950 Peptidimpfstoff behandelt. Sicherheit und Immunogenität konnten dabei nachgewiesen werden².

Das führte zu einer weiteren ehrgeizigen klinischen Phase 1 Studie. Dabei wurde ein Ansatz basierend auf einer personalisierten, an das molekulare Profil des jeweiligen Patiententumors angepassten Impfung angewendet³.

Gentechnisch erzeugte Therapien für Gliome

Fortschritte auf den Gebieten des T-Zell-Engineering und der synthetischen Biologie eröffnen eine neuartige und umfangreiche, innovative therapeutische Pipeline. Chimäre Antigenrezeptor-T-Zellen (CAR-T-Zellen) bieten eine neue Strategie, um das defekte Immunsystem zu umgehen und

verschiedenen Hindernissen, die durch die Blut-Hirnschranke und die mit GBM assoziierte Tumormikroumgebung entstehen, entgegenzuwirken⁴.

T-Zell-Engineering ermöglicht die Herstellung eines autologen Zellproduktes, das ein zielspezifisches, hochaffines Single Chain Variable Fragment (scFv) sowie die Domänen, die für vollständige Aktivierung und Co-Stimulation erforderlich sind, enthält.

Der adoptive T-Zell-Transfer mit Anti-CD19 CAR-T-Zellen hat zu bemerkenswerter klinischer Aktivität in bösartigen hämatologischen Erkrankungen geführt und wurde kürzlich von der FDA für pädiatrische akute lymphoblastische Leukämie und das diffuse grosszellige B-Zell-Lymphom bei Erwachsenen zugelassen. Die CAR-T-Zell-Therapie gegen Hirntumoren erscheint vielversprechend: Gliome sind ein gutes Beispiel dafür, dass spezifische Verbesserungen im Transport, in der Persistenz und in der Resistenz gegen mit der Tumormikroumgebung verbundene immunsuppressive Faktoren für den Erfolg von zelltechnisch erzeugten Therapien von grosser Bedeutung sein werden.

Unser Ansatz

Der Fokus unserer Gruppe liegt bei der Entwicklung verbesserter CAR-T-Zellansätze für Gliome und andere primäre ZNS-Tumoren. Unsere Bemühungen werden sich auf die folgenden Punkte, die wir als entscheidend für die Entwicklung erfolgreicher translationaler Programme erachten, konzentrieren:

- 1. Identifizierung von hochspezifischen Zielantigenen auf Glioblastomen** als Ausgangspunkt für die Entwicklung einer CAR-T-Zelltherapie. Unsere langjährige Zusammenarbeit mit dem neurochirurgischen Team in Genf ermöglichte uns seit den 1990er Jahren den direkten wöchentlichen Zugang zu humanen Gliomproben und den Aufbau einer umfassenden Tumorbibliothek mit nun mehr als 1000 Proben von Tumoren und tumorinfiltrierenden Lymphozyten (TIL). Wir beabsichtigen, die Phagen-Display-Technologie zu verwenden, um neue scFvs zu identifizieren, die für den Aufbau und die Prüfung von neuen CAR-T-Zelltherapien benötigt werden. In diesem Zusammenhang werden wir uns besonders auf alternative Epitope konzentrieren, erhalten mittels posttranslatiöner Veränderungen, wie z.B. abnormer Glykosylierung. Dies ist wichtig, da das Glioblastom ein Tumor mit geringer Mutationsbelastung ist. Aus diesem Grund ist es entscheidend, dass auf der Zelloberfläche vorhandene tumorspezifische Antigene gefunden werden, die keine Neo-Epitope sind.
- 2. Entwicklung robuster Modelle für multi-spezifisches Targeting.** Zelltherapien mit monovalenten CAR-T-Zellen führen aufgrund des partiellen Zelloberflächenmarker-Targetings unweigerlich zu Tumorflucht. Tumorerheterogenität ist ein Markenzeichen hochgradiger Gliome. Aus diesem Grund haben wir eine Konzeptnachweis-Pipeline multivalenter RNA-CARs entwickelt und haben sowohl die T-Zell-Oberflächen-CAR-Expression nach der Elektroporation, als auch die Antigliomaktivität und die *in vitro* pro-inflammatorische Zytokinsekretion validiert. Aufbauend auf den zuvor entdeckten Gliomzielstrukturen, werden wir die bestehende Pipeline durch weitere CAR-Konstrukte ergänzen. Das Endziel ist die Umsetzung in der Klinik eines personalisierten Ansatzes mit neoadjuvanten, trivalenten RNA-CAR-T-Zelltherapien bei Rezidiven.
- 3. Reduzierung der CD-19 anvisierenden, CAR-T-induzierten Neurotoxizität.** Der letzte Schwerpunkt wird die Weiterverfolgung unserer früheren Entdeckung sein, bei der wir Perizyten als «off-tumor» Ziele der FDA-zugelassenen anti-CD19 CAR-T-Zelltherapie (Kymriah® and Yescarta®) identifiziert haben (Migliorini *et al.*, Cell, in Überarbeitung). Dank des Swiss Bridge Award 2019 haben wir eine kompetitive Finanzierung erhalten, die uns erlauben wird, inhibitorische CAR-T-Zellansätze zu validieren und umzusetzen. So kann die

Abtötungsfähigkeit des Zellproduktes gegen CD19+ Leukämiezellen erhalten bleiben, während die Perizyten nicht abgetötet werden. Perizyten sind für die Aufrechterhaltung der Integrität der Blut-Hirn-Schranke verantwortlich.

In diesem Zusammenhang wird unsere Forschungsgruppe folgende Bestrebungen fortsetzen:

- Bekämpfung des humanen Glioms mittels induzierbarer Sekretionssysteme;
- Schaffung von kommerziell erhältlichen T-Zell-Banken;
- Entwicklung von innovativen Verabreichungsformen.

Referenzen

1. Dutoit V, Herold-Mende C, Hilf N, *et al.*: Exploiting the glioblastoma peptidome to discover novel tumour-associated antigens for immunotherapy. *Brain* 135:1042-54, 2012
2. Migliorini D, Dutoit V, Allard M, *et al.*: Phase I/II trial testing safety and immunogenicity of the multipeptide IMA950/poly-ICLC vaccine in newly diagnosed adult malignant astrocytoma patients. *Neuro Oncol*, 2019
3. Hilf N, Kuttruff-Coqui S, Frenzel K, *et al.*: Actively personalized vaccination trial for newly diagnosed glioblastoma. *Nature* 565:240-245, 2019
4. Migliorini D, Dietrich PY, Stupp R, *et al.*: CAR T-Cell Therapies in Glioblastoma: A First Look. *Clin Cancer Res* 24:535-540, 2018