

Therapeutische Nutzung von T-Zell-Zielstrukturen und TAM-Inhibitoren

Abschlussbericht: Förderperiode 01.01.2018-31.12.2019

Prof. Dr. Christel Herold-Mende, Experimentelle Neurochirurgie Heidelberg

Zusammenfassung

Voraussetzungen für eine erfolgreiche Immuntherapie im Glioblastom sind die Identifizierung Therapie-geeigneter T-Zell-Zielstrukturen und eine bessere Kontrolle des immunsuppressiven Tumormilieus (1). Dies ist notwendig, damit T-Zellen in ausreichendem Maße einwandern und nicht in ihrer Funktionalität beeinträchtigt werden. In den vergangenen Förderperioden gelang es uns, erste immunogene Tumorantigene mit hoher Tumorspezifität zu identifizieren und die Tumorumgebung und deren Veränderungen im Zuge der Erkrankung besser zu charakterisieren (2-3). Ziel der aktuellen Förderperiode war es, das Repertoire an T-Zell-Zielstrukturen mit einer hohen Tumor-Spezifität stetig zu erweitern und zu prüfen, inwieweit gegen Tumor-assoziierte Mikroglia und Makrophagen (TAMs) gerichtete Substanzen in der Lage sind, das Einwandern von T-Zellen und deren cytotoxische Aktivität zu verbessern. Um weitere therapeutisch nutzbare, immunogene, tumor-spezifische Antigene in Glioblastomen zu identifizieren, wurden gezielt Tumore mit einer hohen T-Zell-Infiltration mit der Proteomics-basierten PF2D-ELISpot-Methode auf das Vorhandensein potenziell immunogener Antigene analysiert (Abb. 1).

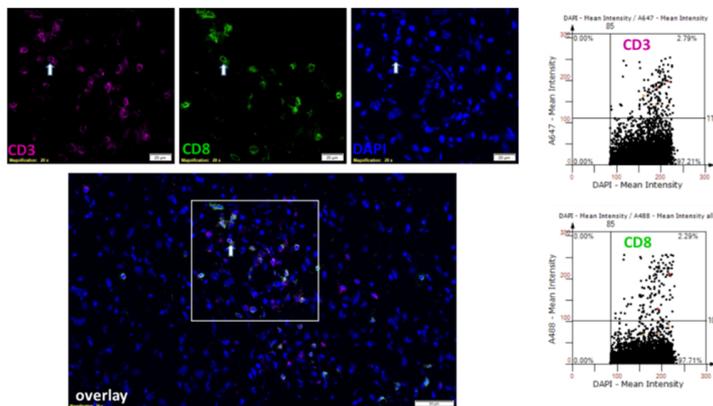


Abbildung 1. Nachweis einer erhöhten T-Zell-Infiltration mittels Mehrfach-Immunfluoreszenzfärbung und anschließender TissueFAXS Auswertung.

Geeignete Kandidaten wurden durch einen Abgleich mit neu identifizierten Zielstrukturen in IDH-mutierten Gliomen und anhand von HLA-Präsentationsdatensätzen herausgefiltert und hinsichtlich ihrer Immunogenität bestätigt (4). Arbeiten zum Nachweis der Heterogenität der Expression der identifizierten T-Zell-Zielstrukturen belegen eine überwiegend gleichbleibende Expression auch im Glioblastomrezidiv. Die Nutzung von an Glioblastomen erhaltenen single cell RNAseq Datensätzen zeigte darüber hinaus, dass zwar keines der identifizierten immunogenen Antigene in allen Tumorzellen gleichzeitig exprimiert wird, aber dass große Überlappungen in

der Expression der Antigene beobachtbar sind und dass eine Kombination mehrerer immunogener Zielstrukturen im Rahmen einer Immuntherapie zu einer sehr guten Abdeckung aller Tumorzellen führen würde.

In Bezug auf die Beeinflussung der immunsuppressiven Tumorumgebung wurden verschiedene TAM-Inhibitoren hinsichtlich ihres Einflusses auf den TAM Phänotyp und im weiteren Verlauf auf die Transmigration und cytotoxische Aktivität von T-Zellen untersucht. Unter insgesamt 4 *small molecule inhibitors* und einem therapeutischen Antikörper, zeigten bis auf eine Substanz alle die gewünschte Veränderung des TAM Phänotyps. Hinsichtlich des Einflusses von behandelten TAMs auf die Transmigration von T-Zellen durch eine autologe Hirntumorendothelzellschicht, konnten wir eine signifikante Zunahme an transmigrierenden T-Zellen für den therapeutischen Antikörper beobachtet werden. Hinsichtlich des Einflusses von behandelten TAMs auf die Funktionalität von T-Zellen, wurde eine signifikante Zunahme der Tumorzellapoptoserate und eine Abnahme der Anzahl an lebenden Tumorzellen ausschließlich für eine der untersuchten Substanzen nachgewiesen. Dies ging einher mit einer Veränderung des Phänotyps von intratumoralen T-Zellen.

Abschließend zeigten wir die Eignung eines Patienten-nahen 3D-Modells mithilfe von *Brain Tumor Slices* zur Analyse von TAM Inhibitoren. Unsere Untersuchungen belegen Veränderungen der Menge an TAMs und des TAM Phänotyps. Dies untermauert nicht nur dessen Eignung für die zukünftige Glioblastomtherapie, sondern legt eine weiterführende präklinische Evaluation nahe.

1. Roesch, S., Rapp, C., Dettling, S. & **Herold-Mende, C.** When Immune Cells Turn Bad-Tumor-Associated Microglia/Macrophages in Glioma. *Int J Mol Sci* 19, (2018).
2. Geisenberger C., Mock A., Warta R., Rapp C., Schwager C., Nied A.-K., Capper D., Brors B., Jungk C., Jones D., Collins V.P., Korshunov A., Ichimura K., Bäcklund L.M., Schnabel E., Mittelbron M., Lahrmann B., Zheng S., Verhaak R.G.W., Grabe N., Pfister S.M. Hartmann C., von Deimling A., Debus J., Unterberg A., Abdollahi A., **Herold-Mende C.** Molecular profiling of long-term survivors identifies a subgroup of glioblastoma characterized by chromosome 19/20 co-gain and favorable outcome. *Acta Neuropathol* 2015 Sep;130(3):419-34.
3. Rapp C., Warta R., Stamova S., Nowrouzi A, Geisenberger C., Gal Z., Roesch S., Dettling S., Juenger S., Bucur M., Jungk C., DaoTrong P., Ahmadi R., Sahn F., Reuss D., Fermi V., Herpel E., Eckstein V., Grabe N., Schramm C., Weigand MA., Debus J., von Deimling A., Unterberg A., Abdollahi A., Beckhove P., **Herold-Mende C.** Identification of T cell target antigens in glioblastoma stem-like cells using an integrated proteomics-based approach in patient specimens. *Acta Neuropathol* 134, 297-316 (2017).
4. Dettling, S., Stamova, S., Warta, R., Schnölzer, M., Rapp, C., Rathinasamy, A., Reuss, D., Pocha, K., Roesch, S., Jungk, C., Warnken, U., Eckstein, V., Grabe, N., Schramm, C., Weigand, M. A., von Deimling, A., Unterberg, A., Beckhove, P. & **Herold-Mende, C.** Identification of CRKII, CFL1, CNTN1, NME2, and TKT as Novel and Frequent T-Cell Targets in Human IDH-Mutant Glioma. *Clin Cancer Res* 24, 2951–2962 (2018).