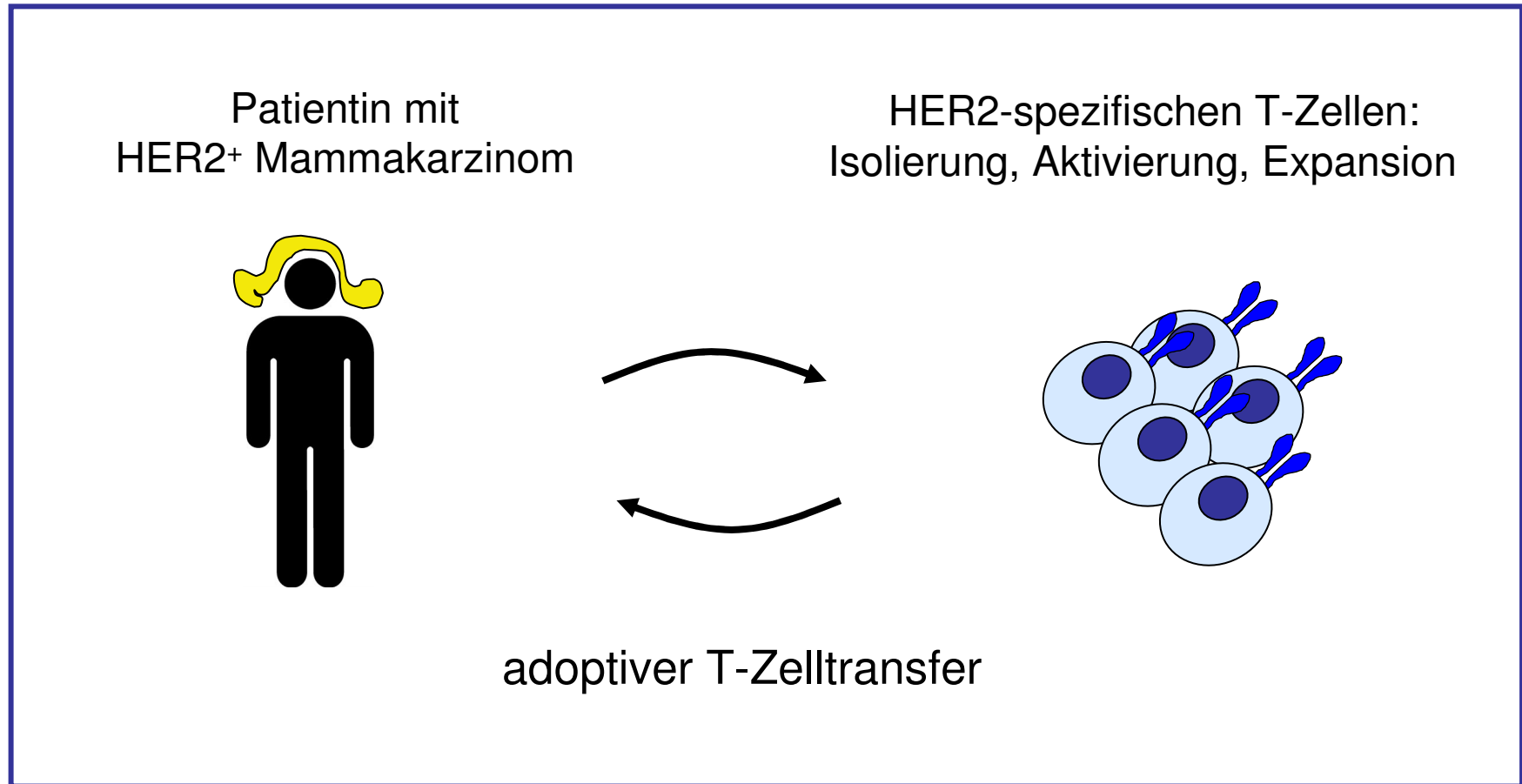


EGF-R-Familie als Target für zytotoxische T-Lymphozyten

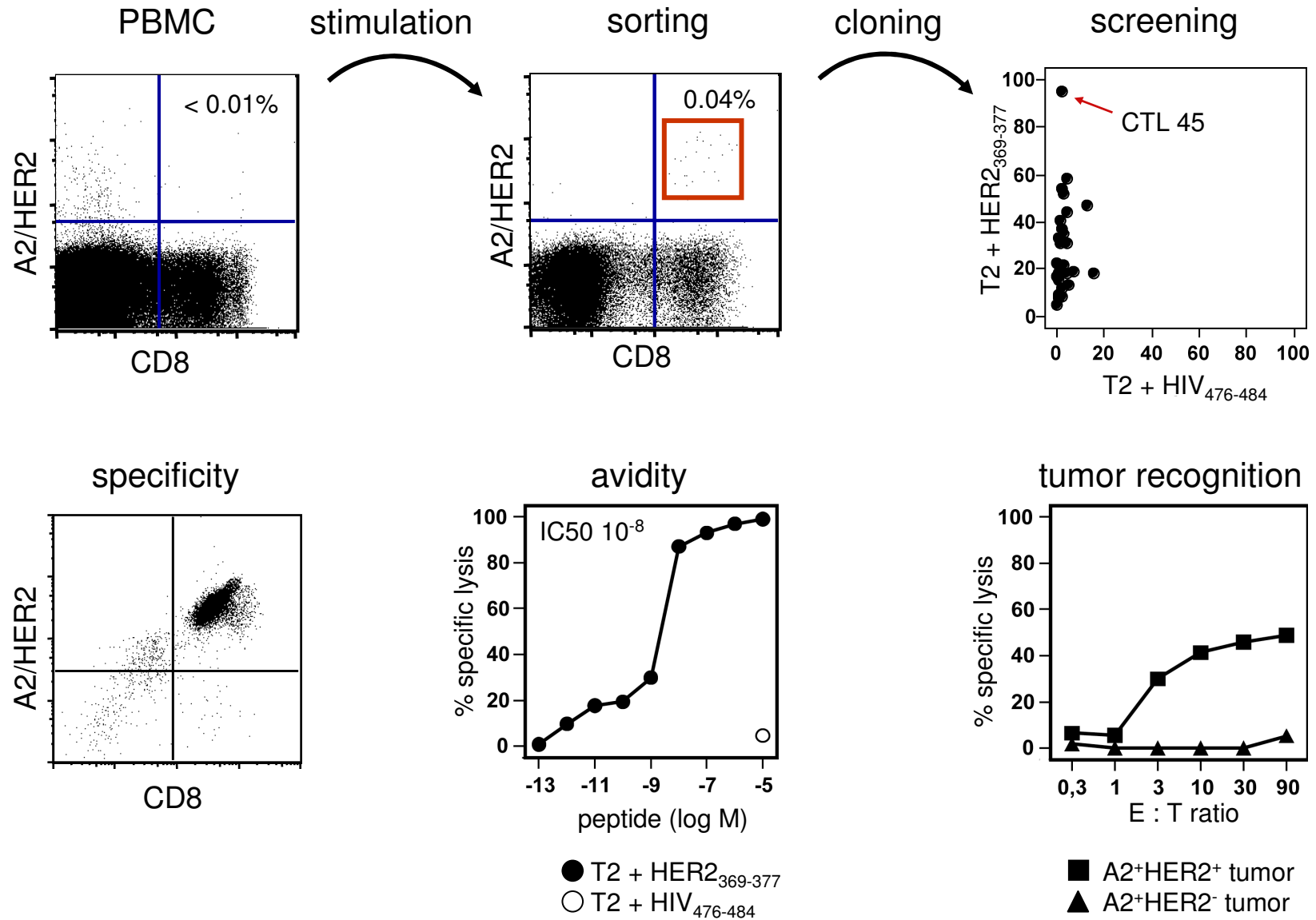
Helga Bernhard



Adoptiver Transfer von HER2-spezifischen T-Zellen zur Therapie des HER2-positiven Mammakarzinoms



Generierung von HER2-reaktiven zytotoxischen T-Zellklonen von einer Patientin mit HER2+++ Mammakarzinom



Adoptiver Transfer von autologen HER2-spezifischen T-Zellklonen bei einer Patientin mit Mammakarzinom

Patienten-Charakteristika

Progression nach Chemotherapie und Herceptin

HER2-positive Lebermetastasen

disseminierte HER2-positive Tumorzellen im Knochenmark

T-Zelltransfer

5 x Infusion der HER2-spezifischen T-Zellklone

1 - 9 x 10⁸ T-Zellen pro Transfer

Interleukin-2: 500.000 U/m² s.c. / Tag

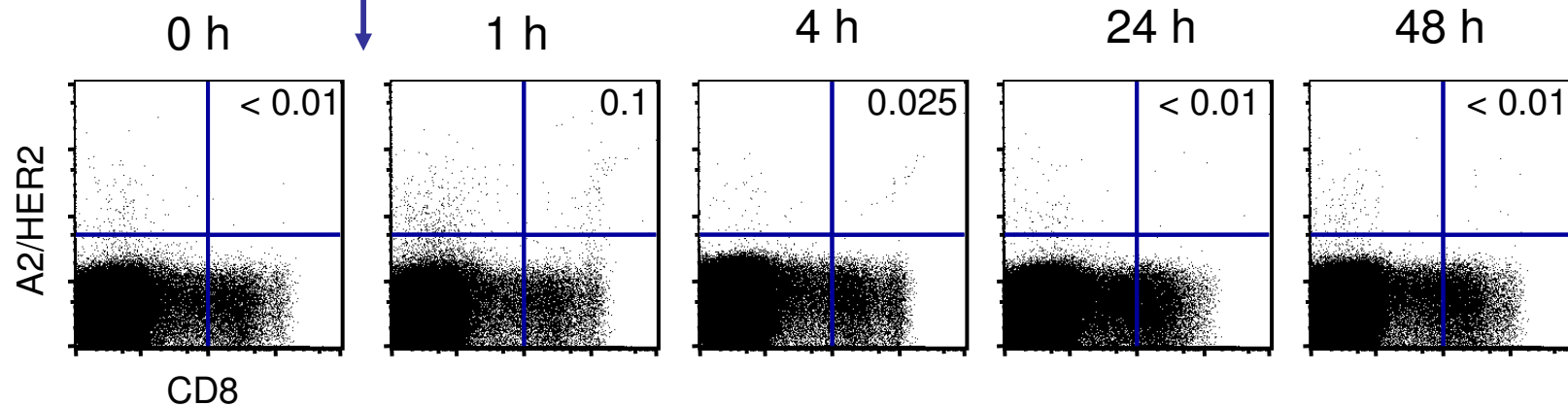
Monitoring

Frequenzanalyse der T-Zellen im Blut und Knochenmark

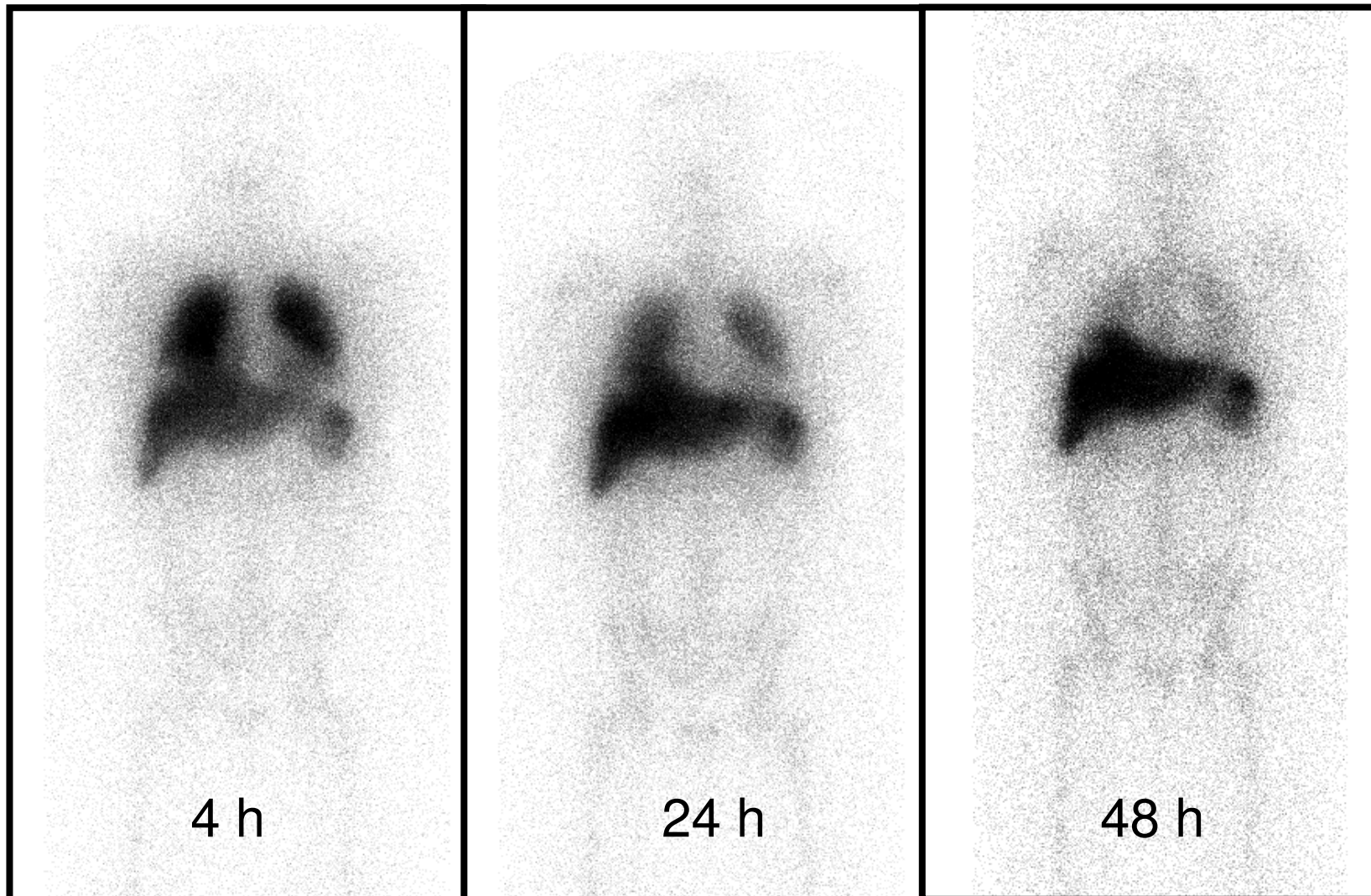
Migrationsverhalten: ¹¹¹Indium-markierte T-Zellen

Frequenz-Analyse der HER2-spezifischen T-Zellen im peripheren Blut nach dem adoptiven T-Zelltransfer

Transfer von 1.2×10^8 HER2-spezifischen T-Zellen (CTL 3)

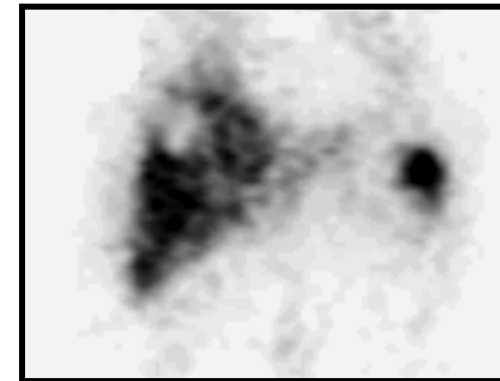
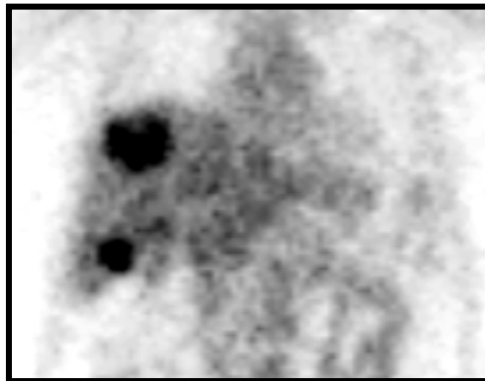
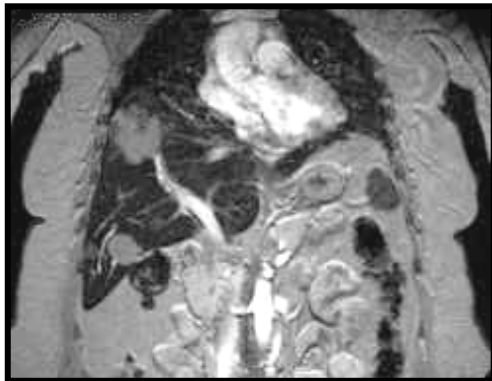
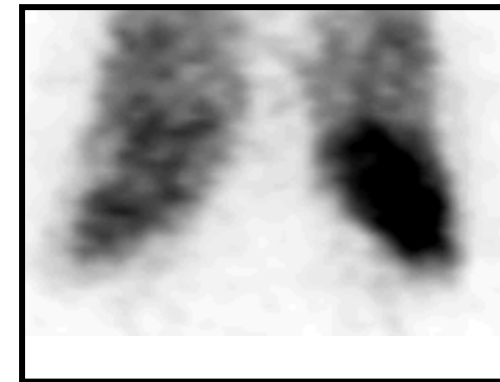
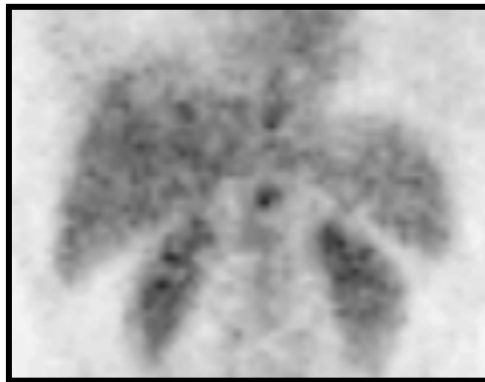
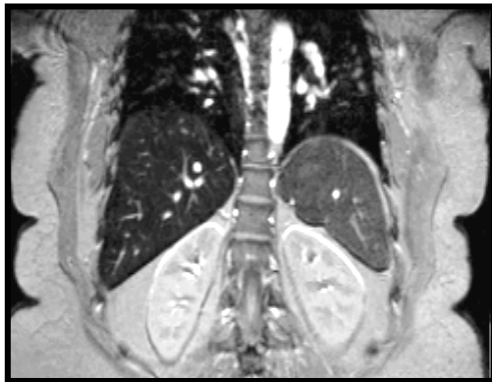


Wanderverhalten der autologen, HER2-spezifischen,
CD8⁺ T-Zellen nach dem Transfer



¹¹¹Indium-markierter CTL Klon #45; Transfer von 7.1×10^8 T-Zellen i.v.

Barriere der soliden Metastasen gegenüber den transferierten HER2-spezifischen T-Zellen



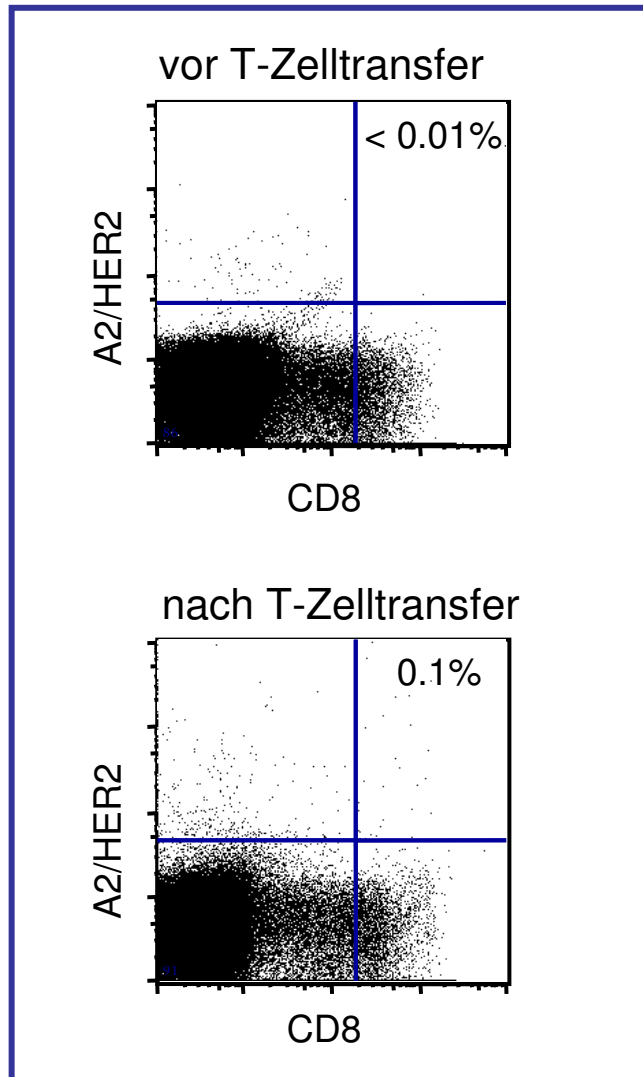
MRT

FDG-PET

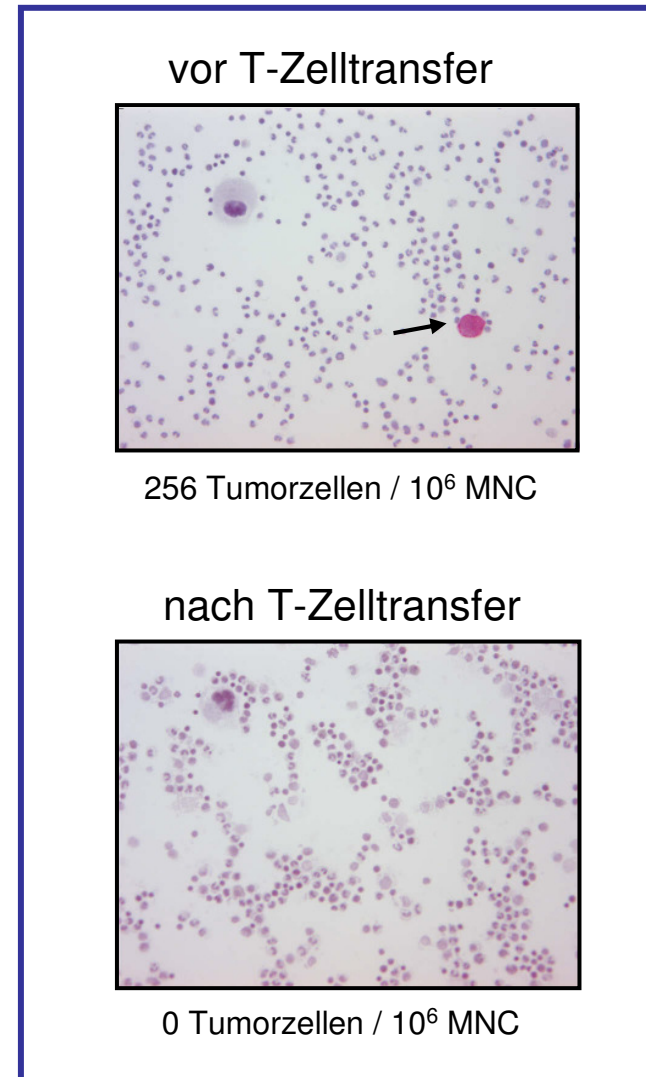
¹¹¹In Lymphozyten

„Monitoring“ von T-Zellen und Tumorzellen im Knochenmark

HER2-spezifische T-Zellen



HER2-positive Tumorzellen



Zwischenbilanz - adoptiver T-Zelltransfer

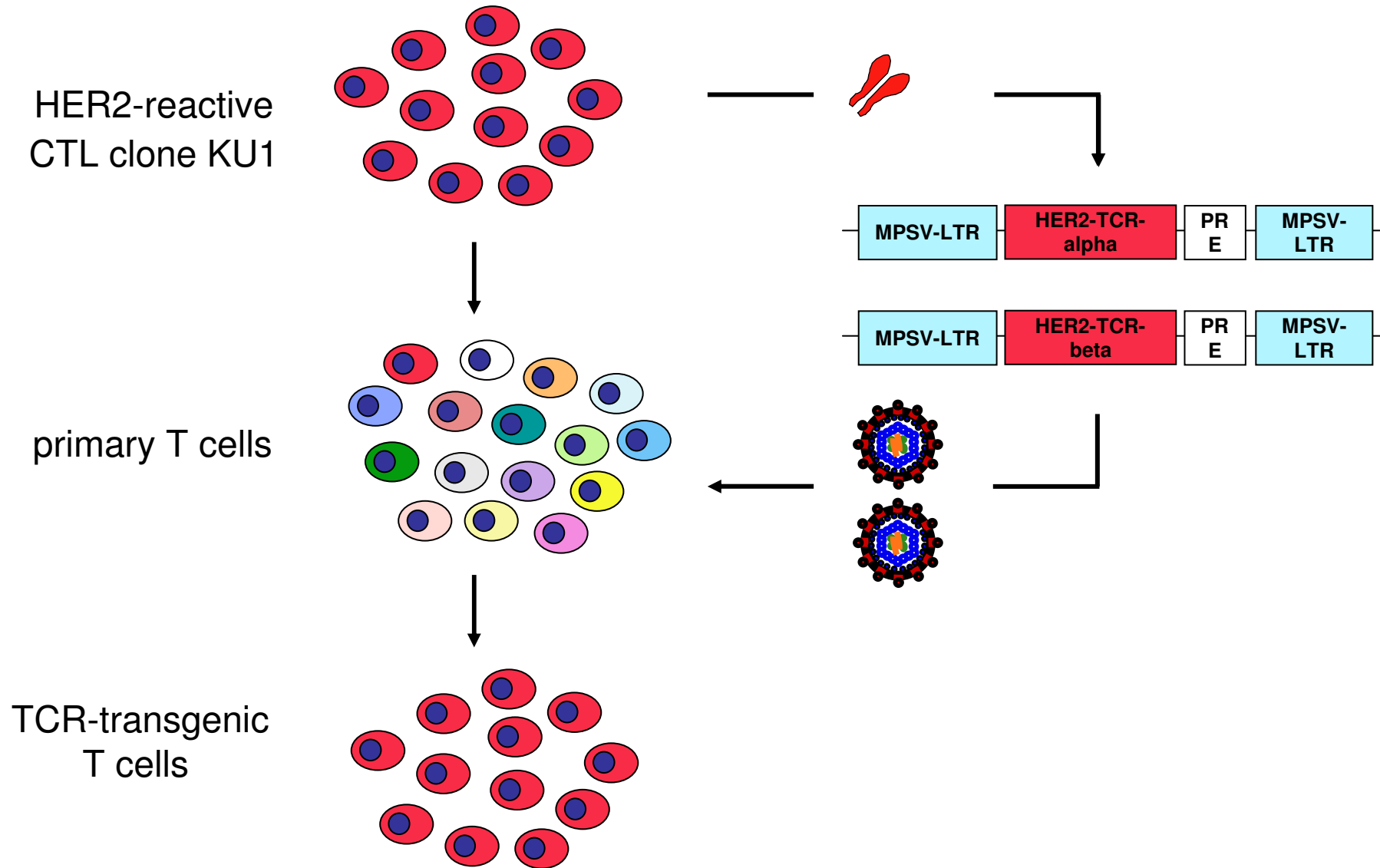
„Proof of Principle“

- Generierung von tumorreaktiven T-Zellen
- Selektion, Klonierung und Expansion
- Spezifität gegen das Tumor-assoziiertes Antigen „HER2“

Limitationen

- hoher Arbeitsaufwand
 - eingeschränkte Wiederholbarkeit
 - niedrige Avidität der T-Zellen
 - schlechte Tumorerkennung
 - kurzes Überleben der T-Zellen
 - unüberwindbare Tumorbarrriere
- in vitro
- in vivo

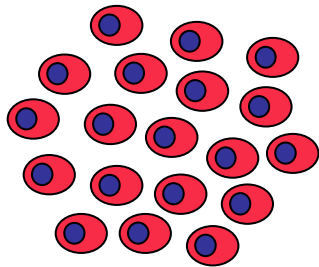
T-Zellrezeptor Gentransfer



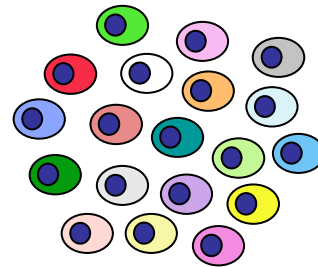
Kooperation mit Wolfgang Uckert, MDC, Berlin

Expression des HER2-reaktiven TCRs nach Gentransfer

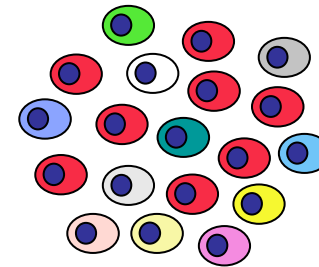
T-Zellklon KU1



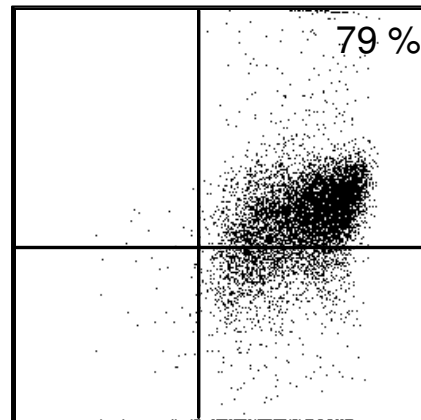
HER2-TCR wt



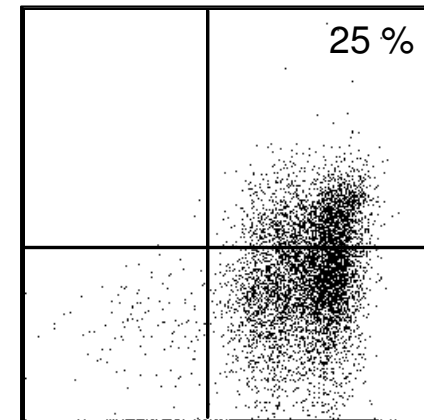
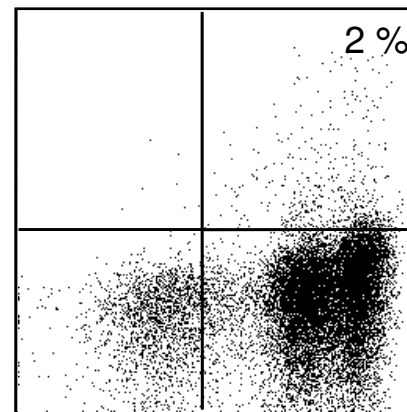
HER2-TCR opt



A2/HER2₃₆₉₋₃₇₇

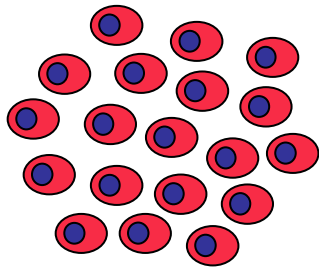


CD8

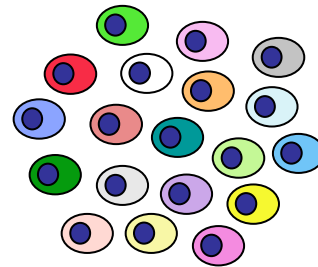


HER2-spezifische Lyse durch primäre T-Zellen nach TCR-Transfer

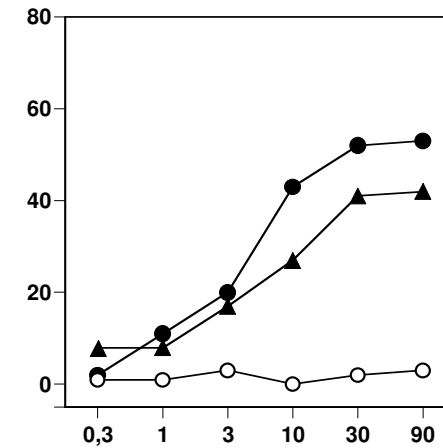
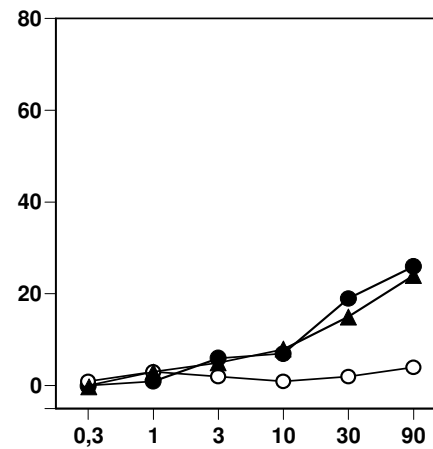
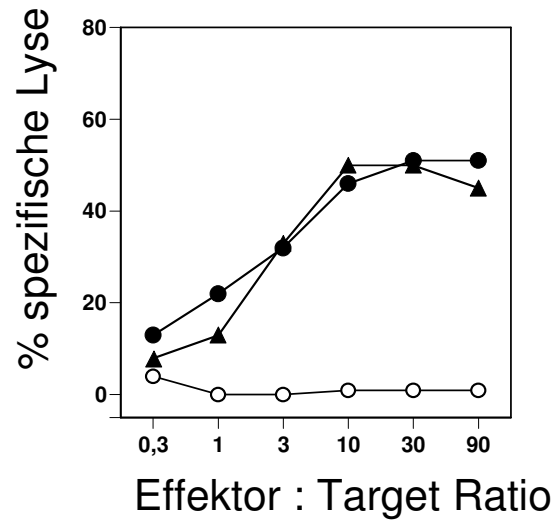
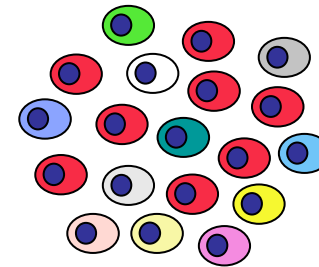
T-Zellklon KU1



HER2-TCR wt



HER2-TCR opt



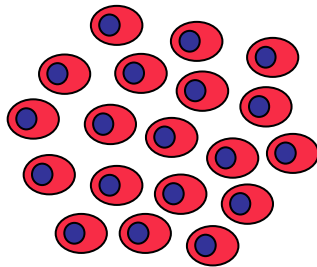
● K562tA2tMigR1tHER2

○ K562tA2tMigR1

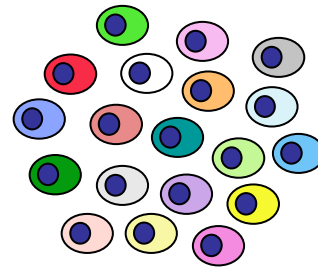
▲ HLA-A2+ HER2+ MCF7

Erkennung von HER2+ Tumorzellen durch TCR-transgene -Zellen

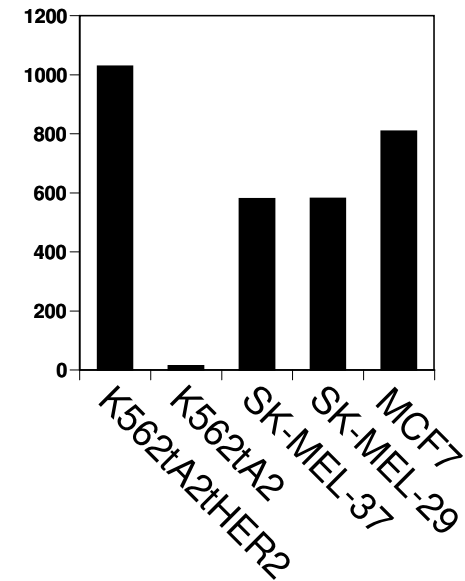
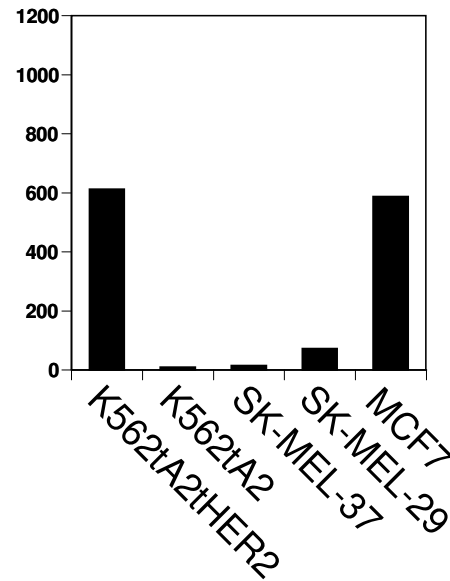
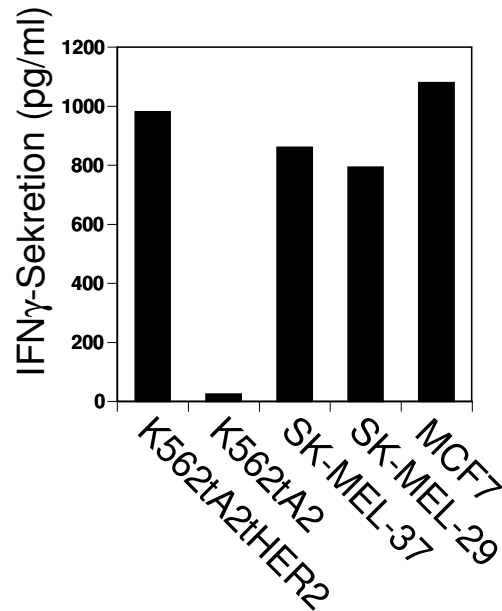
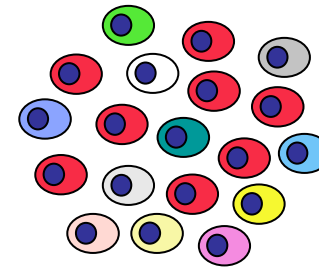
T-Zellklon KU1



HER2-TCR wt

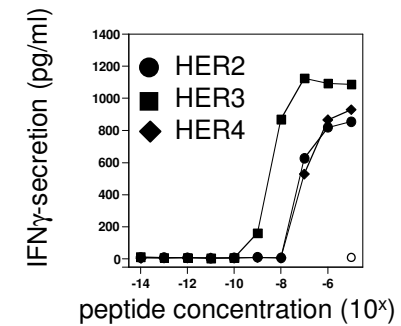
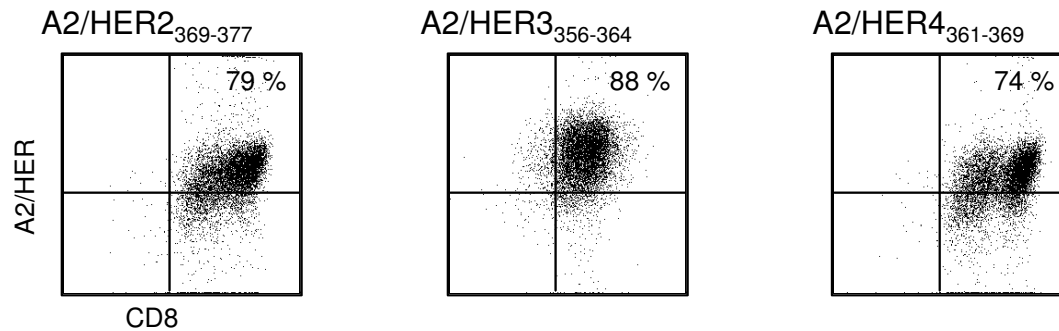


HER2-TCR opt

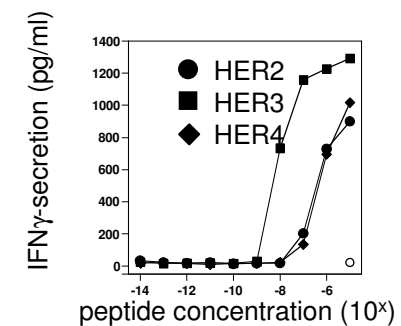
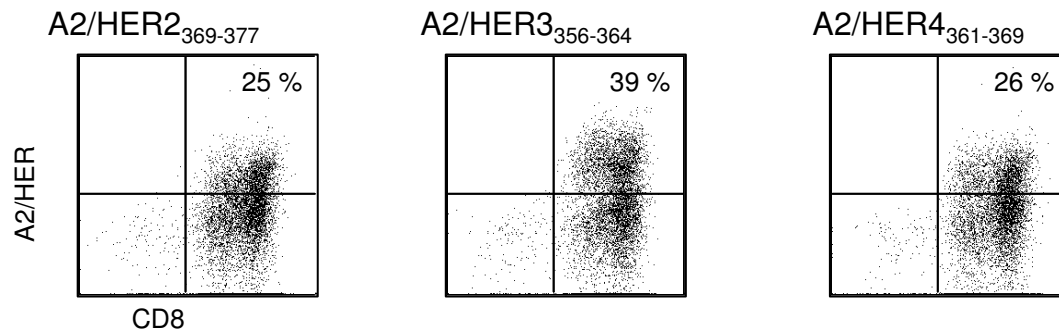


„Kreuz-Spezifität“ von HER2-reaktiven T-Zellen mit HER3 und HER4

CTL clone KU1



HER2-TCR opt



Sequenzhomologie des dominanten
HLA-A2/HER2-Peptidpitops p369-377

HER1 p364-372 **SISGDLHIL**

HER2 p369-377 **KIFGSLAFL**

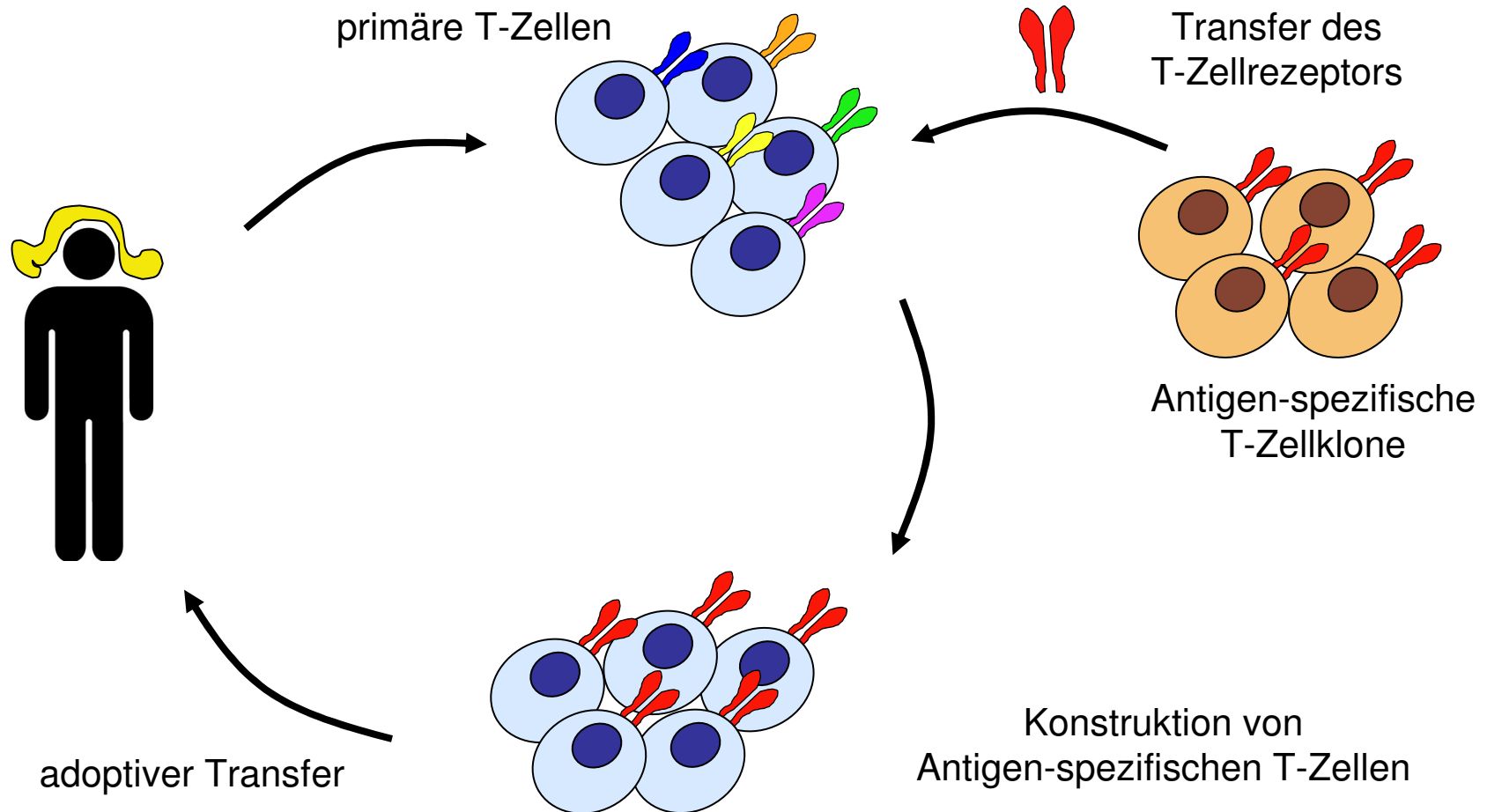
HER3 p356-364 **KILGNLDFL**

HER4 p361-369 **KINGNLIFL**

Potentielle HER T-Zellrezeptoren

| Clone | Priming Model | Restriction | Antigen Specificity | Function | TCR cloning | Function | Optimizing | Function |
|-------|------------------------------|-------------|---------------------|----------|-------------|-------------|-------------|----------|
| KU1 | allo/HER2 ₃₆₉₋₃₇₇ | CD8/A2 | HER3>HER2,HER4 | ++ | ✓ | + | ✓ | ++ |
| KU40 | allo/HER2 ₃₆₉₋₃₇₇ | CD8/A2 | HER2 | ++ | in progress | | | |
| KW63 | auto/HER2-mRNA | CD8/A2 | HER2>>>HER3 | ++ | ✓ | + | in progress | |
| OG2 | auto/HER2 ₈₈₃₋₈₉₉ | CD4/DR4 | HER2 | + | | | | |
| OG5 | auto/HER2 ₈₈₃₋₈₉₉ | CD4/DR4 | HER2 | ++ | in progress | | | |
| CM5 | allo/HER3 ₃₅₆₋₃₆₄ | CD8/A2 | HER3>>>HER2 | ++ | | | | |
| CM30 | allo/HER3 ₃₅₆₋₃₆₄ | CD8/A2 | HER3>>>HER2 | ++ | | | | |
| CM37 | allo/HER3 ₃₅₆₋₃₆₄ | CD8/A2 | HER3>>>HER2 | ++ | | | | |
| CM42 | allo/HER3 ₃₅₆₋₃₆₄ | CD8/A2 | HER3>>>HER2 | ++ | ✓ | in progress | | |
| CM56 | allo/HER3 ₃₅₆₋₃₆₄ | CD8/A2 | HER3>>>HER2 | ++ | | | | |

Konstruktion von Antigen-spezifischen T-Zellen für den Transfer



DANKSAGUNG

Labor Bernhard

Heinke Conrad
Bettina Brackertz
Barbara Kast
Kerstin Gebhard
Julien Daniel
Kathrin Julia Falchner
Kathrin Hofer
Melanie Kimm
Holger Krönig
Stephanie Mayer
Julia Müller
Maria Rosa Salvador

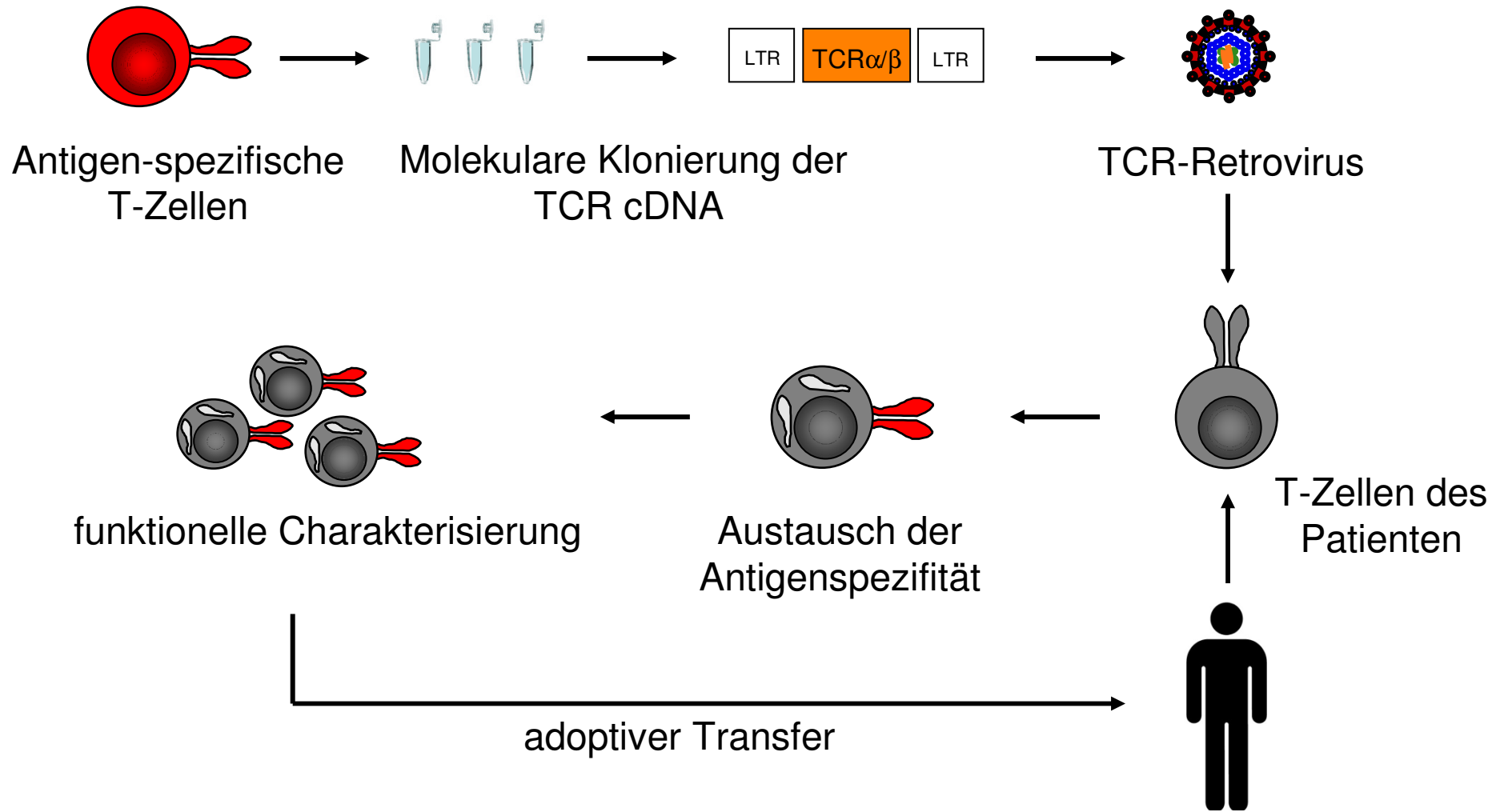
Kooperationen

Technische Universität München
Helmholtz-Allianz München
Charité + MDC Berlin
Ludwig Institute for Cancer Research
Deutsches Krebsforschungszentrum

Förderung

Deutsche Forschungsgemeinschaft
Helmholtz Allianz
José Carreras-Stiftung
Wilhelm Sander-Stiftung
Merck KGaA Darmstadt

Transfer von Antigen-spezifischen T-Zellrezeptoren



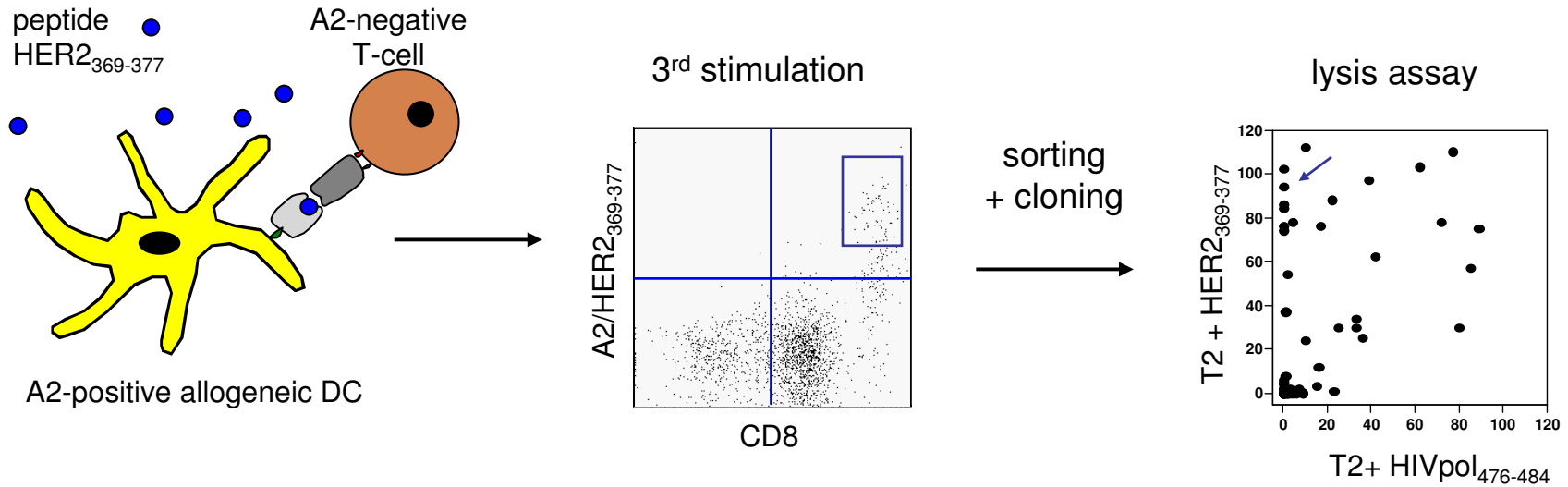
Ziel: Breite Applikation von tumor-reaktiven T-Zellen durch TCR-Gentransfer

- Set von antigen-spezifischen T-Zellklonen
- hohe T-Zellrezeptor-Avidität
- gute Tumorerkennung
- Analyse der Kreuzreaktionen



- Klonierung der TCRs in retrovirale Vektoren
- TCR Gentransfer in primäre T-Lymphozyten
- Selektion von dominant exprimierten TCRs
- Optimierung der TCR-Expression
- Spezifität und Funktion der TCR transgenen T-Zellen

Generierung von HER2-spezifischen CTL-Klonen aus HLA-A2- CD8⁺ T-Zellen nach Stimulation mit allogenen HLA-A2⁺ DC



CTL clone KU #1

