

„BiTEs® – Antikörperkonstrukte für den Einsatz in der Tumortherapie“

Peter Krauß, Tim Herdt und Mathias Diefenbach

Diagnose Krebs

Bösartiges Zellwachstum, maligne Tumore, Karzinome... alle umschreiben das gleiche Krankheitsbild: Krebs. Eine schockierende Diagnose, die in Deutschland im Jahr 2010 schätzungsweise 450.000 Männern und Frauen gestellt wurde. Mit einer Sterberate von bis zu 47 % aller diagnostizierten Patienten in den ersten fünf Jahren zählt Krebs nach den Herz-Kreislaufkrankungen zur zweithäufigsten Todesursache in westlichen Industrieländern. Doch wieso stellt ein scheinbar banales Problem maligner Gewebeneubildung eine so große Hürde für die moderne Medizin dar? Warum sind die Therapieaussichten vergleichsweise gering, so dass Krebs in wenigen Jahren zur führenden Todesursache aufsteigen wird, obwohl beträchtliche finanzielle Mittel in die Krebsforschung fließen?

Krebs ist eine komplexe Krankheit mit verschiedensten Ausprägungen. Die Vielfalt an unterschiedlichen Tumoren beruht dabei auf der großen Anzahl von Angriffspunkten für zelluläre Prozessveränderungen im Erbgut. Der mehrstufige Mutationsprozess der Karzinogenese, ausgehend von einer einzelnen Zelle über mehrere Generationen hinweg, resultiert letztendlich in der Entstehung einer individuellen Tumorzelle. Das heranwachsende Karzinom infiltriert in späteren Stadien die Blut- und Lymphgefäße und breitet sich durch die Ausbildung neuer Tumore an verschiedenen Stellen im gesamten Organismus aus. Gerade diese Komplexität an individuellen Tumoren und die Schwierigkeit einer frühzeitigen Diagnose erschweren den Therapieerfolg gegen Krebsleiden.

Doch es naht Hoffnung in Form neuartiger Antikörperkonstrukte, den sogenannten *Bispecific T-cell-engager* (BiTEs). Diese passiven Hilfesteller für das körpereigene Immunsystem bestätigten in ersten erfolgsversprechenden klinischen Studien an menschlichen Probanden ihre effektive Wirkung im Einsatz gegen Karzinome. Ihre Eigenschaften, Wirkungsweise und Effektivität in der Tumorbekämpfung bilden das zentrale Thema dieses Artikels.

T-Lymphozyten versus Tumorzellen – Tarnen und Täuschen

Das menschliche Immunsystem ist ein hochkomplexes und sehr effektives Verteidigungsnetzwerk, sowohl gegen eindringende Fremdkörper aus der Umwelt als auch gegen entartete, körpereigene Zellen mit Fehlfunktionen. Ohne eine ständige Überwachung unserer Körperzellen durch das Immunsystem würden wir bereits in frühen Jahren an Krebs erkranken. Doch wie funktioniert die selektive Erkennung und Beseitigung gesundheitsgefährdender Stoffe aus dem Organismus bei gleichzeitiger Verschonung aller gesunden, zum Organismus gehörenden Zellen?

Immunreaktionen werden durch sogenannte Antigene ausgelöst, die sich an der Oberfläche sämtlicher körpereigener, als auch fremder Zellen und Stoffe befinden. Diese sehr variablen, kleinen Moleküle können dabei je nach Einstufung durch das Immunsystems zur Auslösung oder Inhibierung einer immunologischen Abwehrreaktion führen. Neben dem angeborenen spielt dabei das adaptive, erworbene Immunsystem mit

den Thymusabhängigen-Lymphozyten (T-Lymphozyten) eine zentrale Rolle. Diese überprüfen mit ihren spezifischen Rezeptoren und zusätzlichen costimulierenden Oberflächenmolekülen Antigene, die an der Oberfläche von Zellen präsentiert werden. Nach der Identifizierung eines schädlichen Fremdkörpers oder einer Zelle mit Fehlfunktion induziert die CD3-Untereinheit (ein Proteinkomplex aus vier verschiedenen Polypeptidketten) des T-Zell-Rezeptors über mehrere Schritte die Vermehrung der spezifischen T-Lymphozyten. Diese können dann die potenziell schädlichen und als fremdartig erkannten Zellen zum Beispiel durch die Ausschüttung zytotoxischer Reagenzien aus dem Verkehr ziehen.

Warum aber existieren dann Krankheiten wie Krebs, wenn T-Lymphozyten eine Vielzahl von potentiellen Krebszellen im menschlichen Organismus identifizieren und eliminieren können? Tumorzellen sind in der Lage, sich während ihres Entwicklungsprozesses anzupassen. Sie entwickeln effektive Tarn- und Täuschmechanismen, die auf jeder Ebene der komplexen Erkennungs- und Aktivierungssignalwege von T-Lymphozyten eingreifen. Diese reichen von der Verhinderung der Antigenpräsentation auf der Zelloberfläche, über die Blockade des T-Zell-Rezeptors, bis zur Immunität gegen die zytotoxischen Reagenzien der T-Lymphozyten. Die Tumorzelle, welche nach einer evolutionären Selektion mit der effektivsten Kombination dieser Tarn- und Täuschmechanismen überlebt, breitet sich im Organismus aus und führt letztendlich zur Entstehung von Krebs.

Die Anwendung von *Bispecific T-cell-engagern* ermöglicht jedoch die Identifizierung und Eliminierung von Tumorzellen mit T-Lymphozyten unabhängig von der Präsentation eines Tumor-assoziierten Antigens und anderer costimulierender Faktoren. BiTEs überwinden jegliche bis heute bekannte Form an Tarn- und Täuschmanövern von Tumorzellen und besitzen damit sehr großes Potential in der Krebsbekämpfung.

BiTEs: *Bispecific T-cell-engager* - Antikörperkonstrukte

Antikörper sind tetramere Proteine, welche aus je zwei leichten und schweren Ketten mit variablen und konstanten Domänen aufgebaut sind. Aus der Verknüpfung dieser Kettentypen entsteht die typische Yförmige Antikörperstruktur mit zwei identischen spezifischen Antigen-Bindestellen und dem konstanten Antikörperstamm.

Die Bindung von Antigenen funktioniert nach dem „Schlüssel-Schloss-Prinzip“, bei dem nur eine selektive Bindung zwischen spezifischen Antikörpern und Antigenen auftritt. Nach der Identifizierung und der Bindung durch Antikörper können verschiedene Immunreaktionen ausgelöst werden. Die für die Bekämpfung von Tumorzellen notwendige Rekrutierung von T-Lymphozyten durch den konstanten Antikörperstamm findet jedoch aufgrund fehlender Rezeptoren nicht statt. Um dieses Manko auszugleichen stand deshalb in den letzten Jahren beim Biotech-Unternehmen *Micromet* in München für die Bekämpfung von Tumorzellen die Entwicklung neuartiger Antikörperkonstrukte im Fokus, die neben einer selektiven Markierung von Tumorzellen eine gleichzeitige Rekrutierung von T-Lymphozyten ermöglichen: *Bispecific T-cell-engager*.

Die rekombinant hergestellten *Bispecific T-cell-engager*-Antikörperkonstrukte werden aus der Verknüpfung zweier variabler Domänen verschiedener Antikörper erhalten. Dadurch entstehen zweiköpfige Antikörpermoleküle, von denen ein Kopf an die CD3-Untereinheit des T-Zell-Rezeptors andockt, der andere an ein Tumor-spezifisches Antigen (Abbildung 1). Die direkte BiTE-vermittelte Kopplung zwischen Tumorzelle und T-Lymphozyt ermöglicht die Aktivierung körpereigener immunologischer Abwehrmechanismen und führt im Idealfall zur vollständigen Eliminierung des Karzinoms im Organismus. Die besondere Eigenschaft der BiTEs liegt in der weitgehenden Unabhängigkeit von den komplexen Erkennungs- und Aktivierungssignalwegen der T-

Lymphozyten. BiTEs können jeden T-Lymphozyten (auch ohne passenden T-Zell-Rezeptor) unabhängig von der Antigenpräsentation mit MHC-Komplexen rekrutieren und eine Aktivierung der Abwehrmechanismen ohne costimulierende Moleküle induzieren. BiTEs überwinden damit jegliche bis heute bekannte Formen an Tarn- und Täuschmanövern von Tumorzellen. Eine hohe Proteinstabilität bei gleichzeitig einfacher Herstellung in Säugetierzellen ergänzt die Vorteile in der Anwendung von *Bispecific T-cell-engagern*.

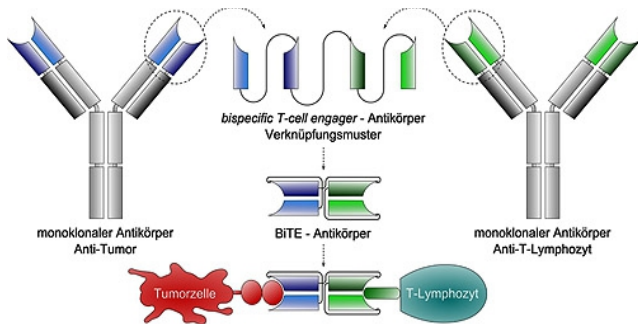


Abbildung 1: Konstruktion eines BiTE-Antikörperkonstruktes aus zwei monoklonalen Antikörpern (monoklonal bedeutet, dass die Antikörper von einer auf einem einzigen B-Lymphozyten zurückgehenden Zelllinie produziert werden). Die variablen Domänen erkennen ein Tumor-spezifisches Antigen und die CD3-Untereinheit des T-Zell-Rezeptors, wodurch eine Identifizierung und Eliminierung des Tumors durch T-Lymphozyten eingeleitet wird.

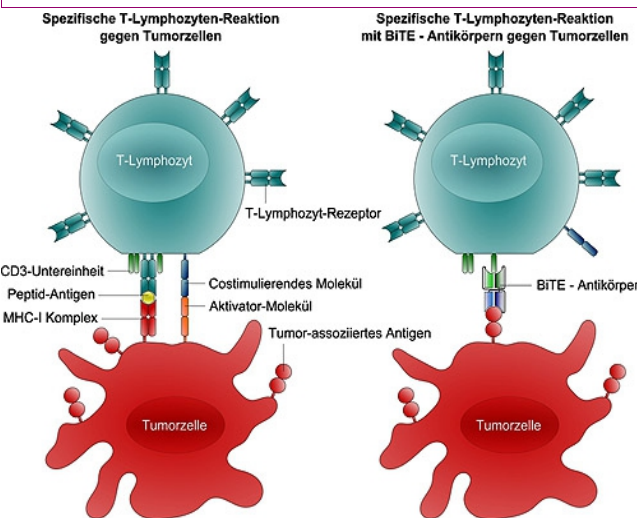


Abbildung 2: Schematischer Vergleich der normalen, T-Zellen-vermittelten Immunreaktion und der BiTE-induzierten Abwehrreaktion gegen Tumorzellen. BiTEs ermöglichen die Identifizierung und Eliminierung von Tumorzellen unabhängig von den komplexen Erkennungs- und Aktivierungssignalwegen der T-Lymphozyten. Sie ermöglichen damit die Überwindung jeglicher Tarn- und Täuschmanöver von Krebszellen.

Wie aber funktioniert die Eliminierung der Tumorzellen mit BiTEs? Nachdem in einem ersten Schritt die Bindung des bispezifischen Antikörpers an ein zuvor ermitteltes Antigen der Tumorzelle erfolgt ist, rekrutiert der nichtgebundene Arm des BiTE einen T-Lymphozyten (Abbildung 2). Für eine Aktivierung ist dabei jedoch eine polyvalente Präsentation der BiTEs notwendig. Bei einer zu geringen Anzahl an *Bispecific T-cell-engagern* auf der Oberfläche der Tumorzelle bleibt die gewünschte Abwehrreaktion aus. Die folgende Aktivierung der T-Lymphozyten durch die BiTE-Bindung gleicht der normalen, immunologischen Abwehrreaktion einer T-Zelle gegen schädliche Fremdkörper. Sie beginnt mit der Produktion von Adhäsionsmolekülen und Aktivierungsmarkern auf der Zelloberfläche und der Freisetzung von Wachstumsfaktoren (Zytokinen). Gleichzeitig wird die Zellteilung des T-Lymphozyten stimuliert. Abschließend erfolgt die Sekretion zytotoxischer Substanzen aus der T-Zelle und damit eine präzise Abtötung der Tumorzelle. Nach der Lyse der Zielzelle ist der T-Lymphozyt weiterhin einsatzfähig und kann weitere Tumorzellen bekämpfen. Diese serielle Abtötung von Zielzellen resultiert in der hohen BiTE-Effizienz bei gleichzeitig geringem T-Lymphozyten-zu-Tumorzellen-Verhältnis.

Das große Potential von *Bispecific T-cell-engagern* in der Krebsbekämpfung führte in den vergangenen Jahren zur Konstruktion erster BiTE-Antikörper für den therapeutischen Einsatz am Menschen.

Therapeutisches Potential von BiTEs – *Blinatumomab*

Das aktuell am weitesten klinisch fortgeschrittene, therapeutische BiTE-Antikörperkonstrukt, welches

als erstes in einer klinischen Studie an Menschen getestet wurde, ist der *Bispecific T-cell-engager* MT103 des biopharmazeutischen Unternehmens Micromet. Der BiTE-Antikörper, der unter dem Synonym *Blinatumomab* sein großes Potential bereits in Tierversuchen bestätigte, wurde in einzelnen Behandlungszyklen über Zeiträume von vier bis acht Wochen verabreicht. Aufgrund seiner relativ kurzen biologischen Halbwertszeit von

maximal drei Stunden wurde der BiTE-Antikörper während der klinischen Studien kontinuierlich durch Infusion verabreicht.

In Phase I-Studien, die der Bestimmung einer ordnungsgemäßen Dosis und vorherrschender Nebenwirkungen dienen, wurden Patienten mit *Non-Hodgkins*-BZellen-Lymphom behandelt, bei denen konventionelle Behandlungen fehlschlagen. Die Behandlung der Versuchspersonen wurde mit einer Dosis von 0,0005 mg/m² *Blinatumomab* pro Tag begonnen und während der Studie auf 0,09 mg/m² pro Tag gesteigert. Nach ersten positiven Reaktionen auf die Behandlung ab einer Dosis von 0,015 mg/m² pro Tag, wurde der Abbau von Tumorzellen bei allen therapierten Patienten mit einer verabreichten Menge von 0,06 mg/m² pro Tag erreicht. Beobachtete Nebenwirkungen waren Störungen des Zentralnervensystems in Form von Verwirrung, Desorientierung und Sprachstörungen, bis zu grippeähnlichen Symptomen, sowie vorübergehender Verringerung von Lymphozyten, beziehungsweise Leukozyten.

Die ersten Studien bestätigten die hohe Effektivität von *Bispecific T-cell-engagern* in der Therapie von Krebserkrankungen. Die erzielten, wirksamen Serumkonzentrationen des Wirkstoffes lagen um mehrere Größenordnungen unterhalb derer konventioneller monoklonaler Antikörper, die üblicherweise zur Behandlung von Tumorerkrankungen eingesetzt werden. Weiterhin reduzierten Dosen von 0,015 mg/m² pro Tag und höher nicht nur Tumorzellen im Blut, in Lymphknoten-Läsionen und der Milz, sondern darüber hinaus auch im Knochenmark und der Leber. Nach der Behandlung mit *Blinatumomab* zeigten mehr als 50 % aller Patienten Remissionszeiten von über einem Jahr. Obwohl in diesen Fällen keine vollständige Heilung gelang, wurde ein deutlicher Rückgang der Krankheitssymptome beobachtet. Die erhaltenen, vielversprechenden Ergebnisse ermöglichten die Durchführung einer Phase II-Studie.

In der Phase II-Studie, die dem Erhalt von Daten zur Sicherheit und Nutzung einer Behandlung dient, wurden Patienten mit den gleichen Krankheitsbildern wie in der ersten Phase therapiert. Bei einer festen Dosis von 0,015 mg/m² pro Tag fielen die aus Phase I bekannten Nebenwirkungen wesentlich schwächer aus. Gleichzeitig wurden keine *Blinatumomab*-bindenden oder -neutralisierenden Antikörper detektiert, die aufgrund immunologischer Abwehrreaktionen die Funktion des BiTE-Antikörpers beeinflussen oder verhindern können. Bei Patienten mit akuter BZellen-lymphatischer Leukämie, die nach konventionellen Behandlungen noch eine minimale Resterkrankung aufwiesen, führte eine vierwöchige Therapie mit *Blinatumomab* sogar zu vollständiger Genesung.

Neue Ansätze in der Behandlung liegen mit ihrem Fokus auf der Reduktion von Nebenwirkungen und anderen Verabreichungsformen. Tierversuche bestätigten die Aktivität von *Blinatumomab* auch nach der Verabreichung unter die Haut durch Injektionen. Eine derartige Verabreichungsmethode würde speziell bei Patienten in frühen Krankheitsstadien eine angenehmere Therapie im Vergleich zu einer kontinuierlichen Infusion ermöglichen. Neben dem Beginn einer Phase III-Studie mit dem Antikörperkonstrukt *Blinatumomab* stehen die Weiterführung klinischer und vorklinischer Studien mit anderen potentiellen BiTE-Konstrukten im Mittelpunkt der nächsten Jahre.

Zusammenfassung und Ausblick – Was bringt die Zukunft

Rekombinant hergestellte *Bispecific T-cell-engager* kombinieren jeweils ein spezifisches Paratop zweier monoklonaler Antikörper gegen die CD3-Untereinheit von T-Lymphozyten und ein Tumor-spezifisches Antigen. Als passive Hilfesteller für das körpereigene Immunsystem rekrutieren sie T-Lymphozyten an Tumorzellen und leiten hierdurch Abwehrreaktion ein, die zu einer vollständigen Eliminierung des Karzinoms im Organismus führen können. Erste klinische Studien mit dem aktuell fortschrittlichsten BiTE-

Antikörperkonstrukt *Blinatumomab* an menschlichen Probanden bestätigten die hohe Effektivität in der Krebsbekämpfung und bilden die Basis für zukünftige Versuchsreihen.

Bispecific T-cell-engager sind sehr erfolgsversprechende maßgeschneiderte biotechnologische Wirkstoffe für die Behandlung von Krebserkrankungen. Sie sind Vorreiter und Vertreter einer neuen Generation von Antitumorwirkstoffen, die dadurch wirken, dass sie das körpereigene Immunsystem beim Aufspüren und der Bekämpfung von Tumorzellen unterstützen.

Kontakt:



Der Artikel wurde im Rahmen des Studienprojektes HighChem des Fachbereichs Chemie der Technischen Universität Darmstadt verfasst (s. [Woche 2](#)). Die Autoren, Peter Krauß, Tim Herdt und Mathias Diefenbach, sind Studierende des Faches Chemie (Master) an der TU Darmstadt

(E-Mail: krauss-peter@gmx.net,

timherdt@t-online.de,
mathias.diefenbach@onlinehome.de).

Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. Harald Kolmar (E-Mail: kolmar@biochemie-tud.de).



Schlauer Fuchs

Unsere Schlaue-Fuchs-Frage zu diesem Beitrag lautete:

Wodurch werden Immunreaktionen ausgelöst?

Literatur:

[1] Robert Koch-Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V., *Krebs in Deutschland 2005 / 2006 – Häufigkeiten und Trends*, Bei-träge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Berlin, 2010.

[2] C. Wagener, O. Müller, *Molekulare Onkologie – Entstehung, Progression, klinische Aspekte*, 3. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart, 2009.

[3] D. Nagorsen, R. Bargou, D. Rüttinger, P. Kufer, P.A. Bäuerle, G. Zugmaier, *Immunotherapy of lymphoma and leukemia with T-cell engaging BiTE antibody blinatumomab*, *Leukemia & Lymphoma* (2009), 50(6), 886.

[4] P. A. Bäuerle, P. Kufer, R. Bargou, *BiTE: Teaching antibodies to engage T-cells for cancer therapy*, *Current Opinion in Molecular Therapeutics* (2009), 11(1), 22.

[5] E. Wolf, R. Hofmeister, P. Kufer, B. Schlereth, P. A. Bäuerle, *BiTEs: bispecific antibody constructs with unique anti-tumor activity*, *Drug Discovery Today* (2005), 10(18), 1237.

[6] P. A. Bäuerle, C. Reinhardt, *Bispecific T-Cell Engaging Antibodies for Cancer Therapy*, *Cancer Res.* (2009), 69(12), 4941.