

J. Kuball¹ · H. Bernhard² · R.-H. Voss¹ · C. Peschel² · C. Huber¹ · M. Theobald¹

¹ III. Medizinische Klinik und Poliklinik, Klinikum der Johannes Gutenberg-Universität, Mainz

² III. Medizinische Klinik, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität, München

Gen-Immuntherapie zur Behandlung von Malignomen

Zusammenfassung

Entartete Zellen unterliegen, so eine derzeitige Hypothese, der äußeren Kontrolle durch das Immunsystem. Dies ist in der Lage, von Tumorzellen prozessierte und über Haupt-histokompatibilitätskomplexe (MHC) prä-sentierete Peptide via T-Zellen zu erkennen. Da Tumorzellen sich bei der Präsentation von Peptiden in den MHC-Komplexen durch Pep-tid-Quantität und/oder Peptid-Qualität (so genannte Tumorantigene) von den norma-len Zellen unterscheiden, kann dies zu ihrer Erkennung und Zerstörung führen. Kommt es zur Manifestation eines Malignoms, so hat offensichtlich diese immunologische Kon-trolle versagt. Die Gründe hierfür sind vielfäl-tig: Verlust der Fähigkeit zur Präsentation von Tumorantigenen, reduzierte Expression kostimulatorischer Signale und ein unzurei-chendes T-Zell-Repertoire führen zu einer verminderten oder gar fehlenden Erkennung durch Tumorantigen-spezifische T-Zellen. Ziel gentherapeutischer Bemühungen ist es nun, die Tumorantigen-spezifischen T-Zellen wieder zu aktivieren und zu amplifizieren. Ein Eingreifen ist besonders bei kleiner Tumorlast, z. B. nach chirurgischer Resektion, zur Bekämpfung einer minimalen residualen Erkrankung sinnvoll.

Schlüsselwörter

Immuntherapie · Gentherapie ·
Klinische Studien

Eine Vielzahl unterschiedlichster Tu-morantigene ist in den letzten Jahren identifiziert worden. Diese werden un-ter anderem nach dem Expressionsmu-ster eingeteilt: „Cancer/Testis-Antigene“ (MAGE, NY-ESO-1) werden physiolo-gisch exklusiv im Hodengewebe, „Diffe-renzierungsantigene“ (gp100, Tyrosina-se) im Rahmen einer bestimmten Ent-wicklungsstufe von Zellen exprimiert, pathologisch jedoch in einer Vielzahl unterschiedlichster Malignome. So ge-nannte überexprimierte Antigene (p53, HER2/c-erbB2/neu) sind in geringen Mengen in unterschiedlichsten gesun-den Geweben und in Folge einer ver-stärkten Transkription, Genamplifikati-on oder verminderten Abbau im Rah-men der Tumorentstehung in Maligno-men quantitativ vermehrt nachweisbar. Darüber hinaus führen Mutationen der Gensequenzen bei der Tumorentwick-lung (CDK4) ebenso wie Tumor-spezifische Spleißvarianten (Restin) zur Bil-dung von neuen, potenziell immunoge-nen Aminosäuresequenzen [1].

Von Tumorzellen prozessierte und in MHC-Komplexen prä-sentierete Tumoran-tigene führen jedoch in der Regel zu kei-ner ausreichenden Rekrutierung von nai-ven T-Zellen. Diese können Tumoranti-gene in MHC-Komplexen durch Interak-tion mit ihrem T-Zell-Rezeptor zwar er-kennen (erstes Signal), benötigen jedoch zur weiteren Aktivierung zusätzliche Sti-muli. Zu diesen zählen z. B. kostimulator-ische Moleküle. Ein Fehlen dieses zwei-ten Signals kann zum funktionellen (An-ergie) oder substanzialen (Deletion) Ver-lust naiver T-Zellen führen. Erst eine Prä-sentation des Tumorantigens in einem adäquaten Umfeld hat somit eine suffizi-

ente Aktivierung Tumorantigen-spezifi-scher T-Zellen zur Folge. Im Rahmen ei-ner Immuntherapie müssen daher Tu-morantigene in vivo in einem anderen Kontext präsentiert werden, d. h. z. B. in Zellen, die auf die Präsentation von Anti-genen und eine Aktivierung von T-Zellen spezialisiert sind (professionell Antigen-präsentierende Zellen: dendritische Zel-len der Haut) (Abb. 1). Alternativ können Tumorzellen mit essenziellen Eigenschaf-ten der professionell Antigen-präsentie-renden Zellen ausgestattet werden (z. B. durch Expression von kostimulatori-schen Molekülen). Im Gegensatz zur In-vivo-Aktivierung von T-Zellen, können T-Zellen auch ex vivo aktiviert, modifi-ziert und anschließend dem Patienten reinfundiert werden (adoptiver T-Zell-Transfer) (Abb. 2c).

Dieser Beitrag stellt Verfahren zur Aktivierung von Tumorantigen-spezifi-schen T-Zellen vor. Es sei in diesem Zu-sammenhang jedoch erwähnt, dass eine Hürde für T-Zell-basierende Immunthe-rapien sich aus der Tatsache ergibt, dass Tumorzellen bereits aktivierten tumor-antigen-spezifischen T-Zellen entkom-men können. Eine verminderte Expres-sion von MHC-Komplexen und eine ge-störte Antigenprozessierung durch die malignen Zellen sind nur einige Grün-de, die einen Tumor für T-Zellen un-sichtbar machen können. Des Weiteren sind Tumorzellen durch die Expression von Todesrezeptor-Liganden (FasL) an

Dr. Jürgen Kuball

Johannes Gutenberg-Universität,
III. Medizinische Klinik und Poliklinik,
Langenbeckstraße 1, 55101 Mainz,
E-Mail: J.Kuball@3-med.Klinik.uni-mainz.de

J. Kuball · H. Bernhard · R.-H. Voss
C. Peschel · C. Huber · M. Theobald

“Immunotherapy of Cancer by Gene Transfer”

Abstract

To the current knowledge, cancer cells could be controlled by the immune system. T cells detect tumor cells by recognizing peptides (tumorantigens), which are processed and presented in the context of major histocompatibility complexes (MHC). In contrast to normal tissues, tumor cells present a different kind and/or amount of peptides by MHC. This can result in a selective destruction of cancer cells by cytotoxic T cells, thereby preserving normal tissues. However, after cancer appears, this surveillance often fails. A variety of reasons may be responsible: Loss of capability to process or present tumor antigens, decreased expression of co-stimulatory molecules and an insufficient T cell repertoire may result in an inadequate immune response to tumor cells. Cancer gene therapy strategies are aiming at enhancing the antigenicity of tumor cells and/or the stimulation of tumorantigen specific T cells. These approaches appear especially attractive for the treatment of minimal residual disease.

Keywords

Immunotherapy · Gene therapy · Clinical studies

Leitthema: Gentherapie: Forschung, Entwicklung und Regularien

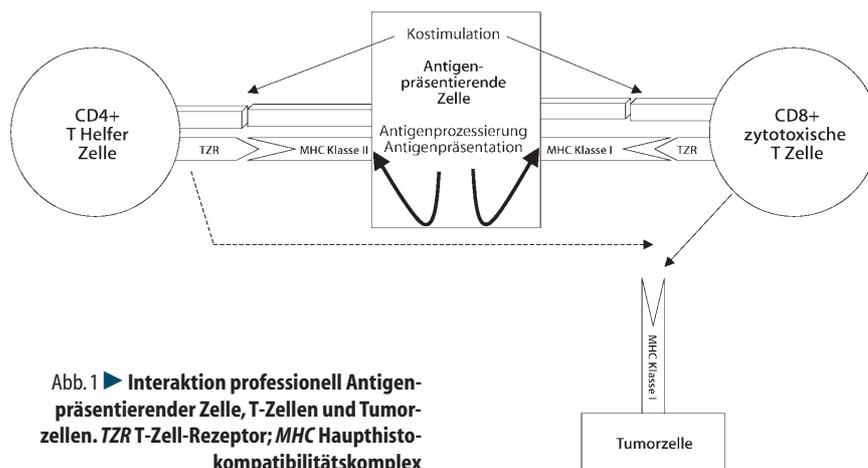


Abb. 1 ► Interaktion professionell Antigen-präsentierender Zelle, T-Zellen und Tumorzellen. TZR T-Zell-Rezeptor; MHC Haupthistokompatibilitätskomplex

ihrer Oberfläche in der Lage, aktivierte T-Zellen unmittelbar zu zerstören [1].

In-vivo-Expression definierter Tumorantigene durch Gentransfer

Durch eine subkutane/intraperitoneale Applikation von Vektoren (nackte DNA bzw. rekombinante Adenovirus-, Retrovirus- oder Vakziniavirus-Vektoren), die mit der cDNA des entsprechenden Tumorantigens/Tumorproteins ausgestattet sind, können professionell Antigen-präsentierende Zellen in vivo „indirekt“ rekrutiert werden [2, 3, 4]: Der Vektor wird von den Antigen-präsentierenden Zellen aufgenommen und produziert in diesen Zellen das entsprechende Tumorantigen/Tumorprotein. Die Zellen präsentieren das prozessierte Antigen/Protein mittels des MHC-Komplexes auf ihrer Oberfläche und aktivieren dadurch Effektorzellen, die die Tumorzellen erkennen (Abb. 2a) [2].

In der Tat können im Tiermodell durch eine Immunisierung mit Vektoren, die für definierte Tumorantigene kodieren, Tumorantigen-spezifische T-Zellen rekrutiert werden. Die Applikation eines Vakziniavirus-Vektors, der für Tyrosinase kodiert, konnte Tyrosinase-spezifische Effektorzellen [2] und rekombinante Adenoviren, die das Transgen p53 enthalten, p53-spezifische zytotoxische T-Zellen in Mäusen aktivieren [Kuball J, Schuler M, Wölfel T, Theobald M, unveröffentlichte Ergebnisse]. Solche zytotoxischen T-Zellen sind in vivo auch im Sinne einer Tumorprotektion funktionell. Nach Vakzinierung mit einem für gp100-kodierenden adenoviralen

Vektor kam es neben der Induktion von gp100-spezifischen T-Zellen zu einem Schutz gegenüber gp100-positiven Tumoren [5].

Eine wiederholte Applikation viraler Vektoren/Vakzine wird jedoch durch die Immunogenität der verwendeten Vektorsysteme limitiert. Hierdurch induzierte humorale Immunantworten behindern die wiederholte Applikation des gleichen Vektorsystems, da z. B. neutralisierende anti-adenovirale Antikörper die Effektivität einer erneuten Adenovirus-Applikation deutlich einschränken [6]. Daher bietet sich die sequenzielle Applikation unterschiedlicher Vektorsysteme an (z. B. DNA-Vakzine gefolgt von Adenovirus-Vakzinen, die auf verschiedenen Adenovirus-Typen basieren), die jeweils für das gleiche Tumorantigen kodieren, jedoch unterschiedliche humorale Immunantworten induzieren (Prime-Boost-Verfahren) [1, 6, 7]. Zum anderen kann, im Gegensatz zu der bisher erläuterten „indirekten“ Rekrutierung professionell Antigen-präsentierender Zellen, eine „direkte“ Ex-vivo-Rekrutierung dendritischer Zellen durch Transduktion von dendritischen Zellen in der Zellkultur erfolgen. Dies ermöglicht eine wiederholte Applikation desselben Impfstoffes (der Impfstoff besteht in diesem Fall aus den dendritischen Zellen, die mit dem Vektor transduziert wurden) ohne Induktion einer humoralen Immunantwort. Auch bestehende humorale Immunantworten, wie diese für Adenoviren beim Menschen die Regel sind, beeinträchtigen die Effektivität eines solchen Impfstoffes nicht [8].

Zusammenfassend erscheinen aus den präklinischen Untersuchungen sol-

che Vakzine vielversprechend zu sein. Limitierend für die Vorhersage der klinischen Effektivität ist, dass eine Vielzahl der experimentellen Tiermodelle als Tumorantigen für das Tier „fremde“ Proteine/Epitope verwenden. Diese unterscheiden sich von den Selbstantigenen komplett oder durch den Austausch einzelner Aminosäuren. Immunisierungen finden demzufolge auch mit einem für das Tier fremde Protein/Antigen statt. Als Konsequenz steht diesen fremden Epitopen ein ausreichendes T-Zell-Repertoire zur Verfügung. Da viele der Tumorantigene jedoch auch Selbstantigene sind, führt dies zum Verlust qualitativ hochwertiger (hoch-avider) Tumorantigen-spezifischer T-Zellen durch negative Selektion im Thymus oder durch periphere Mechanismen der Toleranz. Ein solches T-Zell-Repertoire ist sicher schwieriger zu aktivieren und zu vermehren [9]. Dass dennoch potenzielle tumorselbstantigen-spezifische T-Zellen der negativen Selektion entkommen können, überleben und durch virale Vakzine aktiviert und amplifiziert werden können, konnte z. B. durch Vakzinierung von Mäusen mit einem Vektor, der für das Maus-p53-Antigen kodiert, gezeigt werden. Diese Immunisierung schützte die Tiere vor dem Wachstum eines p53-überexprimierenden Tumors [10].

In klinischen Studien wurden bereits unterschiedlichste Tumorantigene mit viralen Vektoren subkutan exprimiert. Hierzu zählt die Expression von MART-1, gp100 [4] und p53 mittels adenoviraler Vektoren sowie der Tyrosinase durch ein modifiziertes Vakzinia-Virus [2]. In einer Studie von Rosenberg [4] war diese virale Immunisierung jedoch einer Peptidimmunisierung (Immunisierung mit einem einzigen Peptid in Kombination mit Adjuvants), gemessen an der Induktion Tumorantigen-spezifischer T-Zellen, unterlegen. Gegenüber p53 konnten in Patienten mit fortgeschrittenen Tumorerkrankungen keine zytotoxischen T-Zellen generiert werden [Kuball J, Schuler M, Wölfel T, Theobald M, unveröffentlichte Ergebnisse]. Mögliche Gründe für den Misserfolg von solchen Vakzinen sind bereits oben diskutiert worden.

In der klinischen Prüfung erfolgreicher waren Prime-Boost-Verfahren (Vakzinierung mit einem rekombinanten Vacciniavirus und Avipoxvirus, die

das CEA-Tumorantigen exprimieren) [3]. Eine Kombination mit Zytokinen, wie dem Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierenden Faktor (GM-CSF) und Interleukin-2 (IL-2), konnte die Effektivität weiter steigern (siehe Expression von Zytokinen) [3]. Des Weiteren sind für die klinische Prüfung Impfstoffe wünschenswert, bei denen dendritische Zellen mit Vektoren, die für Tumorantigene kodieren, transduziert werden.

Gentherapeutische Expression in Tumorzellen

Expression von kostimulatorischen Molekülen

Tumorzellen oder deren Lysate sind als Impfstoffe attraktiv, da man im Gegensatz zur definierten Expression einzelner Tumorantigene das gesamte Potenzial relevanter Tumorantigene nutzen kann, ohne es näher definieren zu müssen. Hierzu ist

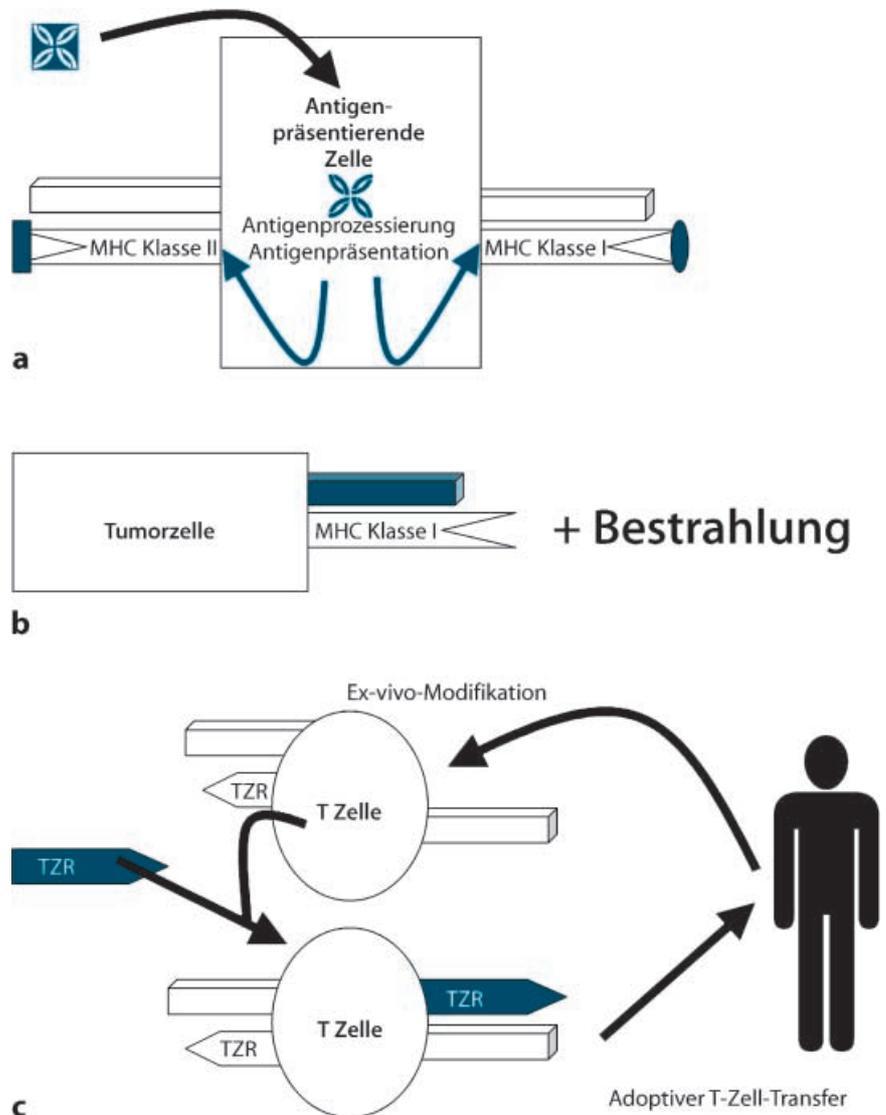


Abb. 2a–c ▲ Gentherapeutisches Eingreifen zur Modifikation der Immunantwort. a Expression von definierten Tumorantigenen in professionellen Antigen-präsentierenden Zellen mittels Vektoren: indirekte Rekrutierung (in vivo: direkte subkutane Applikation des Tumorantigens), direkte Rekrutierung [ex vivo: Übertragung des Tumorantigens in kultivierte dendritische Zellen und anschließende Reinfusion der Zellen als Tumorstoffe in den Patienten]. Ex vivo: Übertragung des Tumorantigens in kultivierte dendritische Zellen, anschließende Ex-vivo-Expansion Tumorantigen-spezifischer T-Zellen und deren Reinfusion in den Patienten (adoptiver T-Zell-Transfer). b Ausstattung von Tumoren mit kostimulatorischen Molekülen (kann bestrahlt als Impfstoff verwendet werden). c Expression von T-Zell-Rezeptoren mit definierter Antigen-spezifität in T-Zellen

es aber erforderlich, deren Immunogenität zu erhöhen [11]. Ein Beispiel ist die Ex-vivo-Ausstattung von Tumorzellen mit kostimulatorischen Molekülen [12, 13, 14]. Für den klinischen Einsatz bot sich daher die Transduktion von Tumorzellen mit dem Gen an, das für das B7-1-Molekül kodiert. Tumorzellen, in die dieses Gen eingeführt wurde, können dann bestrahlt als Vakzinen verwendet werden (Abb. 2b). Interessanterweise sind nicht nur autologe, sondern auch allogene Tumorzellen in der Lage, Tumorantigen-spezifische T-Zellen zu aktivieren. Als Beispiel für eine klinische Anwendung sei die Expression von B7-1 in allogenen Nierenzellkarzinomzelllinien genannt [15, 16]. Ob dies jedoch in vivo wirklich zu einer ausreichenden Induktion von Tumorantigen-spezifischen T-Zellen führt, bleibt umstritten. Kürzlich publizierte tierexperimentelle Ergebnisse zeigten, dass für die Immunogenität von B7-1-modifizierten Tumorzellen vor allem ihre Ansiedlung in sekundären lymphatischen Organen von Bedeutung ist und nicht die Expression von B7-1 [17].

Ein weiteres Beispiel ist die Übertragung des Moleküls CD154 (CD40-Ligand) in Zellen der chronisch-lymphatischen Leukämie (B-CLL). CD154 wird normalerweise auf T-Helfer-Zellen exprimiert. Die Interaktion zwischen CD154 und dem CD40-Rezeptor, der auf B-Zellen exprimiert wird, führt zur verstärkten Expression akzessorischer Moleküle auf den B-Zellen, so dass diese wiederum zu potenten Stimulatoren der T-Zellen werden. B-CLL-Zellen sind durch eine niedrige Expression kostimulatorischer Moleküle zunächst für das Körperabwehrsystem fast unsichtbar. Durch die Übertragung des CD154-Gens in die B-CLL-Zellen kommt es zur Interaktion zwischen dem eingeführten CD154-Molekül und dem endogenen CD40-Rezeptor, was wiederum eine Verstärkung der Immunogenität der Zellen durch Hochregulation kostimulatorischer Moleküle zur Folge hat. Dieser gentherapeutische Ansatz verfolgt somit, im Gegensatz zur direkten Expression von kostimulatorischen Molekülen wie dem B7-1, eine indirekte Aktivierung akzessorischer Moleküle. Kato et al [18] zeigten, dass B-CLL-Zellen, in die das CD154-Gen mittels adenoviraler Vektoren ex vivo eingeführt wurde, Leukämie-spezifische zytotoxische T-Zellen aktivieren konnten. In einer ersten klinischen Stu-

die wurden nach adoptivem Transfer CD154-transduzierter CLL-Zellen Reduktionen der Leukozytose und Lymphknoten beobachtet [19].

Expression von Zytokinen

Bei der Immuntherapie von Malignomen wird schon seit Jahren die systemische Zytokingabe exploriert. Dabei wurden Erfolge bei der Therapie des Nierenzellkarzinoms [20] und des malignen Melanoms [21] erzielt. Des Weiteren konnte die Effektivität von Immunisierungen mit definierten Antigenen durch die zusätzliche Gabe von Zytokinen wie IL-2 oder GM-CSF im Sinne einer vermehrten Induktion Tumorantigen-spezifischer T-Zellen gesteigert werden [3, 4]. Bei der Therapie des malignen Melanoms zeigte eine randomisierte Phase-III-Studie, dass Patienten, die mit einer systemischen Hochdosis-Interferon-alpha-Therapie behandelt wurden, im Vergleich zu Patienten, die einer Immuntherapie mit dem Impfstoff GM2-KLH/QS21 unterzogen wurden, eine erhöhte Überlebensrate aufwiesen [22]. Diese Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung von Zytokinen in der Immuntherapie. Dennoch ist die systemische Therapie mit Zytokinen unselektiv und mit einer nicht zu unterschätzenden Toxizität verbunden.

Daher wurde versucht, die Expression des Zytokins auf die Zellen zu beschränken, in denen es seine Wirkung entfalten soll, nämlich auf die Tumorzellen. In der Präklinik, das heißt in Tierversuchen, hat diese lokale Zytokinexpression zum Teil beeindruckende Erfolge erzielt [23, 24, 25]. In den Studien wurde das Zytokingen ex vivo in isolierte Tumorzellen eingebracht und diese anschließend als so genannte Tumorzellen im Tiermodell verwendet. Meist wurden zu diesem Zweck nicht bestrahlte, das heißt sich teilende Tumorzellen, eingesetzt. Für den klinischen Einsatz verbietet sich dies jedoch. Hier können nur bestrahlte Tumorzellen verwendet werden, deren Effektivität in der Präklinik jedoch zum Teil geringer war [25].

Die Expression der Zytokine in den Tumorzellen scheint die lokale Rekrutierung von Effektorzellen, die Tumorzellen zerstören und Tumorantigene freisetzen, zu bewirken. Durch Aufnahme der freigesetzten Tumorantigene in professionell Antigen-präsentierenden Zellen kann es nun zu einer systemischen Tumor-spezi-

fischen Immunantwort kommen. Besonders relevant sind in diesem Zusammenhang die Zytokine IL-2, IL-12 und GM-CSF. GM-CSF führt zur Rekrutierung Antigen-präsentierender Zellen, IL-2 und IL-12 sind potente Stimulatoren von T-Zellen. In den letzten Jahren sind eine Vielzahl klinischer Studien durchgeführt worden. Neben der Demonstration von Sicherheit sind jedoch keine durchschlagenden Erfolge erzielt worden: Tumorantigen-spezifische T-Zellen konnten nur in einem geringen Anteil der Patienten induziert werden, Hinweise auf eine klinische Effektivität waren selten [25]. Letztendlich ist aber auch hier eine Kombination aus mehreren Strategien zu fordern, z. B. eine zusätzliche Übertragung von kostimulatorischen Molekülen in die Tumorzellen. Für zukünftige Studien sollten zudem Tumorzellen verwendet werden, die definierte Tumorantigene in ausreichender Quantität exprimieren, was ein klinisches Monitoring der Tumorantigen-spezifischen T-Zell-Antwort erleichtert [25].

Adoptiver T-Zell-Transfer

Immunisierungen führen oft zu einer unzureichenden Rekrutierung Antigen-spezifischer T-Zellen. Daher bietet sich eine Ergänzung des vorhandenen T-Zell-Repertoires durch adoptiven Transfer Tumorantigen-spezifischer T-Zellen an. Dies bedeutet, dass Antigen-spezifische T-Zellen aus Patienten gewonnen, ex vivo vermehrt und anschließend reinfundiert werden müssen. Die Durchführbarkeit dieser Strategie einschließlich Wirksamkeitsnachweis wurde klinisch bereits bei der Behandlung von viralen Infektionen nach Transfer von CMV-spezifischen T-Zellen in immundefizienten Patienten mit CMV-Infektionen bewiesen (CMV: Cytomegalievirus) [26].

Ex-vivo-Vermehrung Antigen-spezifischer T-Zellen durch genetisch modifizierte dendritische Zellen

Ein Beispiel für den adoptiven Gentransfer ist die Ex-vivo-Anreicherung von T-Zellen gegen den humanen epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor 2 (HER2/c-erbB2/neu), der von einigen Adenokarzinomen unterschiedlichen Ursprungs überexprimiert wird. Die Amplifikation des Gens und seine resultierende Überexpression tragen zu dem malignen Phä-

notyp des Tumors bei und sind mit einer schlechten Prognose assoziiert [27]. Bei der Generierung von HER2-spezifischen T-Zellen für den adoptiven T-Zelltransfer kann die Fähigkeit dendritischer Zellen genutzt werden, naive T-Zellen in vitro antigenspezifisch zu aktivieren [28]. Dabei werden proliferierende dendritische Vorläuferzellen mit einem Retrovirus transduziert, der für das HER2-Gen kodiert. Retroviral transduzierte dendritische Zellen präsentieren multiple HER2-Peptidepitope mit verschiedenen HLA-Klasse-I-Molekülen und können dementsprechend HER2-spezifische zytotoxische T-Zellen und T-Helfer-Zellen mit unterschiedlicher HLA-Restriktion induzieren (Abb. 2a) [29,30]. Da die Klonierung und Expansion der HER2-spezifischen T-Zellen in Abwesenheit der genetisch modifizierten dendritischen Zellen durchgeführt wird [26], ist der adoptive Transfer HER2-spezifischer T-Zellklone keine somatische Gentherapie im engeren Sinne. Die genetisch manipulierten dendritischen Zellen werden nur zur anfänglichen Stimulation verwendet und sind zum Zeitpunkt des T-Zell-Transfers nicht mehr in der Zellkultur nachweisbar. Die erfolgreiche Generierung und Klonierung von HER2-spezifischen zytotoxischen T-Zellen und T-Helfer-Zellen (Typ1) bei einer Patientin mit HER2-überexprimierendem Mammakarzinom [30] ermutigt die Weiterentwicklung des adoptiven T-Zell-Transfers für Patientinnen mit fortgeschrittener Tumorerkrankung.

Gentransfer von Tumorantigen-spezifischen T-Zell-Rezeptoren in T-Zellen

Eine breite klinische Anwendung des adoptiven T-Zell-Transfers auf Basis der Expansion vorhandener Tumorantigen-spezifischer T-Zellen ist logistisch und finanziell aufwendig. Eine weitere Hürde für die Immunisierungen durch den adoptiven T-Zell-Transfer ergibt sich aus der Tatsache, dass eine Vielzahl von Tumorantigenen auch Selbstantigene sind. Dies führt zur Reduktion oder gar zum Verlust von hochaviden Tumorantigen-spezifischen T-Zellen durch negative Selektion im Thymus oder durch periphere Mechanismen der Toleranz. Ein solches T-Zell-Repertoire kann demnach kaum in vivo oder in vitro amplifiziert und therapeutisch genutzt werden. T-Zellen las-

sen sich jedoch gentechnisch mit einer neuen Antigen-Spezifität ausstatten. Dies erfolgt durch einen Transfer von Tumorantigen-spezifischen T-Zell-Rezeptoren in humane T-Zellen [31], die dem Patienten anschließend reinfundiert werden könnten. Eine solche Strategie setzt jedoch zumindest die Anwesenheit einer geringen Anzahl hochavid humaner T-Zellen mit entsprechender Spezifität voraus, die zur Gewinnung des T-Zell-Rezeptors notwendig sind. Da diese, wie bereits erwähnt, nicht für alle Tumorantigene vorhanden sind, können hochaffine T-Zell-Rezeptoren mit Spezifität für humane Tumorantigene in Mäusen gewonnen [32,33] und wiederum in humanen T-Zellen funktionell exprimiert werden [33]. Mit dieser Technik des Gentransfers von T-Zell-Rezeptoren in humane T-Zellen mit Spezifität für unterschiedlichste Tumorantigene könnte es also möglich werden, ein T-Zell-Repertoire beliebig zu erweitern (Abb. 2c). Mit genmodifizierten T-Zellen, die eine HIV-Spezifität aufweisen, wurden bereits erste klinische Studien abgeschlossen [34].

Fazit

Zur Beeinflussung des Immunsystems sind allein in Deutschland über 35 klinische Protokolle aktiv oder in Planung, wobei hiervon mindestens sieben Studien einen gentherapeutischen Ansatz integriert haben [16]. Am amerikanischen National Cancer Institute (NCI) sind z. Z. sieben klinische Studien gemeldet (<http://cnetdb.nci.nih.gov/trialsrch.shtml>). Trotz dieser intensiven Bemühungen zeichnen sich derzeit noch keine objektiven klinischen Erfolge ab. Erfahrungen, die in solchen Studien gewonnen werden, tragen jedoch zur weiteren Verbesserung dieser Therapiemodalität bei. Ob die eingeschlagenen Wege sich durchsetzen werden und wenn ja, welcher, bleibt abzuwarten.

Literatur

1. Rosenberg SA (2001) Progress in human tumor immunology and immunotherapy. *Nature* 411:380–384
2. Drexler I, Antunes E, Schmitz M et al. (1999) Modified vaccinia Ankara virus for delivery of human tyrosinase as melanoma-associated antigen: induction of tyrosinase- and melanoma-specific human leukocyte antigen A*0201-restricted cytotoxic T cells in vitro and in vivo. *Cancer Res* 59:4955–4963

3. Marshall JL, Hoyer RJ, Toomey MA et al. (2000) Phase I study in advanced cancer patients of a diversified prime-and-boost vaccination protocol using recombinant vaccinia virus and recombinant nonreplicating avipox virus to elicit anti-carcinoembryonic antigen immune responses. *J Clin Oncol* 18:3964–3973
4. Rosenberg SA, Zhai Y, Yang JC et al. (1998) Immunizing patients with metastatic melanoma using recombinant adenoviruses encoding MART-1 or gp100 melanoma antigens. *J Natl Cancer Inst* 90:1894–1909
5. Zhai Y, Yang JC, Kawakami Y et al. (1996) Antigen-specific tumor vaccines: development and characterization of recombinant adenoviruses encoding MART1 or gp100 for cancer therapy. *J Immunol* 156:700–710
6. Moffatt S, Hays J, HogenEsch H, Mittal SK (2000) Circumventing of vector-specific neutralizing antibody response by alternating use of human and non-human adenoviruses: implications in gene therapy. *Virology* 20:159–167
7. Rosenberg SA (1999) A new era for cancer immunotherapy based on genes that encode cancer antigens. *Immunity* 10:281–287
8. Brossart P, Goldrath AW, Butz EA, Martin S, Bevan MJ (1997) Virus-mediated delivery of antigenic epitopes into dendritic cells as a means to induce CTL. *J Immunol* 158:3270–3276
9. Mayordomo JI, Loftus, DJ, Sakamoto H et al. (1996) Therapy of murine tumors with p53 wild-type and mutant sequence peptide-based vaccines. *J Exp Med* 183:1357–1365
10. Roth J, Dittmer D, Rea D, Tartaglia J, Paoletti E, Levine AJ (1996) p53 as a target for cancer vaccines: recombinant canarypox virus vectors expressing p53 protect mice against lethal tumor challenge. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:4781–4786
11. Seliger B, Huber C (1999) „Immune escape“-Mechanismen von humanen Tumoren. *Onkologie* 5:668–678
12. Zheng P, Liu Y (1997) Costimulation by B7 modulates specificity of cytotoxic T lymphocytes: a missing link that explains some bystander T cell activation. *J Exp Med* 186:1787–1791
13. Antonia SJ, Seigne JD (2000) B7–1 gene modified autologous tumor-cell vaccines for renal-cell carcinoma. *World J Urol* 18:157–163
14. Townsend SE, Allison JP (1993) Tumor rejection after direct costimulation of CD8+ T cells by B7-transfected melanoma cells. *Science* 259:368–370
15. Schendel DJ, Frankenberger B, Jantzer P et al. (2000) Expression of B7.1 (CD80) in a renal cell carcinoma line allows expansion of tumor associated cytotoxic T lymphocytes in the presence of an alloresponse. *Gene Ther* 23:2007–2014
16. Kuball J, Wölfel T (1999) Übersicht laufender Immuntherapiestudien. *Onkologie* 5:701–708
17. Ochslein AF, Siero S, Odermatt B et al. (2001) Roles of tumour localization, second signals and cross priming in cytotoxic T-cell induction. *Nature* 411:1058–1064

18. Kato K, Cantwell MJ, Sharma S, Kipps TJ (1998) Gene transfer of CD40-ligand induces autologous immune recognition of chronic lymphatic leukemia cells. *J Clin Invest* 101:1133–1141
19. Wierda WG, Cantwell MJ, Woods SJ, Rassenti LZ, Prussak CE, Kipps TJ (2000) CD40-ligand (CD154) gene therapy for chronic lymphatic leukemia. *Blood* 96:2917–2924
20. Fyfe G, Fisher RI, Rosenberg SA, Sznol M, Parkinson DR, Louie AC (1995) Results of treatment of 255 patients with metastatic renal cell carcinoma who received high dose proleukin interleukin-2 therapy. *J Clin Oncol* 13:688–696
21. Atkins MB, Lotz MT, Dutcher JP et al. (1999) High-dose recombinant interleukin-2 therapy for patients with metastatic melanoma: analysis of 270 patients treated between 1985 and 1993. *J Clin Oncol* 17:2105–2116
22. Kirkwood JM, Ibrahim JG, Sosman JA, Sondak VK, Agarwala SS, Ernststoff MS, Rao U (2001) High-dose interferon alfa-2b significantly prolongs relapse-free and overall survival compared with the GM2-KLH/QS21 vaccine in patients with resected stage IIb-III melanoma: results of intergroup trial E1694/S9512/C509801. *J Clin Oncol* 19:2370–2380
23. Fearon J, Pardoll DM, Itaya T et al. (1990) Interleukin-2 production by tumor cells bypass T helper function in the generation of an anti-tumor response. *Cell* 60:397–403
24. Golumbek PT, Lazenby AJ, Levitsky HI, Jaffee LM, Karasuyama H, Baker M, Pardoll DM (1991) Treatment of established renal cancer by tumor cells engineered to secrete interleukin-4. *Science* 254:713–716
25. Parmiani G, Rodolfo M, Melani C (2000) Immunological gene therapy with ex vivo gene-doffied tumor cells: a critique and a reappraisal. *Hum Gene Ther* 11:1269–1275
26. Riddell SR, Watanabe KS, Goodrich JM, Li CR, Agha ME, Greenberg PD (1992) Restoration of viral immunity in immunodeficient humans by the adoptive transfer of T cell clones. *Science* 257:238–241
27. Slamon DGC, Wong S, Levin W, Ullrich A, McGuire W (1987) Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 235:177–182
28. Bernhard H, Disis ML, Heimfeld S, Hand S, Gralow JR, Cheever MA (1995) Generation of immunostimulatory dendritic cells from human CD34+ hematopoietic progenitor cells of the bone marrow and peripheral blood. *Cancer Res* 55:1099–1104
29. Meyer zum Büschenfelde C, Nicklisch N, Rose-John S, Peschel C, Bernhard H (2000) Generation of tumor-reactive cytotoxic T lymphocytes against the tumor-associated antigen HER2 using retrovirally transduced dendritic cells derived from CD34+ hemopoietic progenitor cells. *J Immunol* 165:4133–4140
30. Meyer zum Büschenfelde C, Metzger J, Hermann C, Nicklisch N, Peschel C, Bernhard H (in press) The generation of both T killer and T helper cell clones specific for the tumor-associated antigen HER2 using retrovirally transduced dendritic cells. *J Immunol*
31. Clay TM, Custer MC, Sachs J, Hwu P, Rosenberg SA, Nishimura MI (1999) Efficient transfer of a tumor antigen-reactive TCR to human peripheral blood lymphocytes confers anti-tumor reactivity. *J Immunol* 163:507–513
32. Theobald M, Biggs J, Hernandez J, Lustgarten J, Labadie C, Sherman LA (1997) Tolerance to p53 by A2.1-restricted cytotoxic T lymphocytes. *J Exp Med* 185:833–841
33. Stanislawski T, Voss RH, Lotz C et al. (in press) Circumventing self-tolerance to a novel human mdm2 oncoprotein derived tumor antigen by heterologous TCR gene transfer. *Nat Immunol*
34. Mitsuyasu RT, Anton PA, Deeks SG et al. (2000) Prolonged survival and tissue trafficking following adoptive transfer of CD4zeta gene-modified autologous CD4(+) and CD8(+) T cells in human immunodeficiency virus-infected subjects. *Blood* 96:785–793