

Internist 2020 · 61:690–698

<https://doi.org/10.1007/s00108-020-00814-z>

Online publiziert: 27. Mai 2020

© Der/die Autor(en) 2020

Redaktion

M. Hallek, Köln



H.-G. Rammensee^{1,2,3} · M. W. Löffler^{1,2,3,4,5} · J. S. Walz^{1,2,3,7,8} · C. Bokemeyer⁶ · S. P. Haen^{1,2,6} · C. Gouttefangeas^{1,2,3}

¹ Interfakultäres Institut für Zellbiologie (IFIZ), Abteilung Immunologie, Eberhard Karls Universität Tübingen, Tübingen, Deutschland

² Deutsches Konsortium für Translationale Krebsforschung (DKTK) am Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ), Partnerstandort Tübingen, Tübingen, Deutschland

³ Exzellenzcluster iFIT (EXC2180) „Individualisierung von Tumortherapien durch molekulare Bildgebung und funktionelle Identifizierung therapeutischer Zielstrukturen“, Tübingen, Deutschland

⁴ Abteilung für Allgemeine, Viszeral- und Transplantationschirurgie, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Deutschland

⁵ Abteilung Klinische Pharmakologie, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Deutschland

⁶ Zentrum für Onkologie, II. Medizinische Klinik (Onkologie, Hämatologie, Knochenmarktransplantation mit Abteilung für Pneumologie), Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Deutschland

⁷ Medizinische Klinik II für Hämatologie, Onkologie, Immunologie und Rheumatologie, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Deutschland

⁸ Klinische Kooperationseinheit (KKE) für Translationale Immunologie, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Deutschland

Tumorvakzinierung – therapeutische Vakzinierung gegen Krebs

Zusatzmaterial online

Die Online-Version dieses Beitrags (<https://doi.org/10.1007/s00108-020-00814-z>) enthält die *Tabelle S1*: Überblick über aktuell publizierte Fallberichte und Studien (Auswahl) zur klinischen Evaluation von Vakzinierungsansätzen. Beitrag und Zusatzmaterial stehen Ihnen auf www.springermedizin.de zur Verfügung. Bitte geben Sie dort den Beitragstitel in die Suche ein, das Zusatzmaterial finden Sie beim Beitrag unter „Ergänzende Inhalte“.



Hintergrund

Fast jede Körperzelle exprimiert humane Leukozytenantigen(HLA)-Moleküle. Deren physiologische Funktion ist es, Veränderungen im Bestand der zellulären Proteine nach außen anzuzeigen

(**Abb. 1**), so dass diese von den T-Zellen erkannt werden können. Dies führt beispielsweise im Falle einer Virusinfektion der Zelle in der Regel zur Aktivierung viruspezifischer T-Zellen, die die infizierte Zelle dann abtöten.

Im Normalfall präsentiert jede Körperzelle zehntausend oder mehr Peptide aus Tausenden von zellulären Proteinen auf ihren HLA-Klasse-I-Molekülen. Diese Peptide entstehen in der Zelle durch enzymatischen Abbau der zellulären Proteine im Rahmen des normalen Stoffwechsels; der Großteil dieser Peptide wird bis zu einzelnen Aminosäuren abgebaut, eine kleine Auswahl dieser Peptide wird jedoch von den HLA-Molekülen im endoplasmatischen Retikulum gebunden und an die Zelloberfläche gebracht (**Abb. 1**). Der Komplex aus HLA-Molekül und Peptid kann dann von den T-Zellen erkannt werden. Im Normalfall, das heißt, wenn keine pathologischen Peptide darunter sind, passiert nichts, da die T-Zellen gegen die normalen körpereigenen Peptide tolerant sind. Im Falle einer Virusinfektion dagegen sind unter den Tausenden von HLA-präsentierten

Peptiden auch einige aus Virusproteinen, die dann von den T-Zellen als fremd erkannt werden können.

» Tumorspezifische Peptide wären ideale Kandidaten für eine therapeutische Vakzinierung

Im Falle von Krebserkrankungen ist die Sachlage komplexer, da alle Proteine der Krebszelle grundsätzlich körpereigen sind. Was hier von T-Zellen – nicht als fremd, aber als pathologisch verändert – erkannt werden kann, sind beispielsweise sogenannte mutierte Neoantigene, das sind Peptide, die aus einer tumorspezifischen Mutation hervorgehen und damit eine andere Aminosäuresequenz aufweisen als das entsprechende normale Protein. Man geht davon aus, dass insbesondere solche Neoantigene durch die Immuncheckpointinhibitor(ICI)-vermittelte T-Zell-Antwort erkannt werden, da unter anderem die Ansprechrate von Tumoren tendenziell mit der Zahl der Mutationen auf DNA-Ebene korreliert [6].

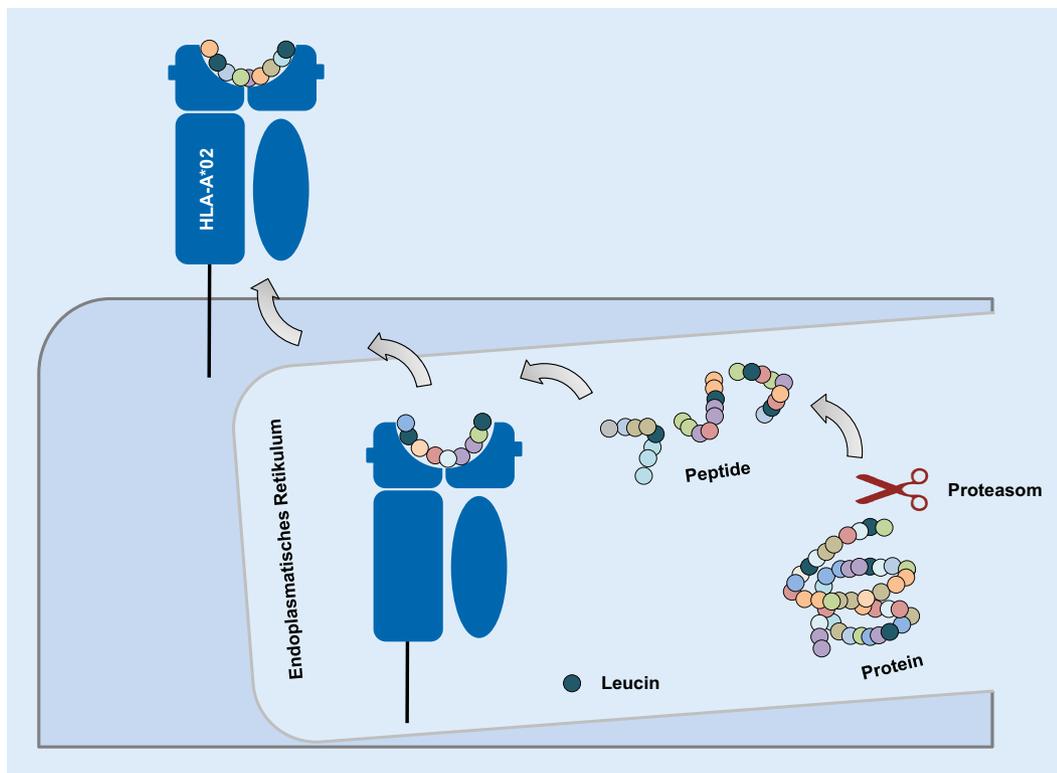


Abb. 1 ◀ Peptidbeladung und -präsentation auf HLA-Molekülen. Grafische Darstellung der Prozessierung, HLA-Beladung und -Präsentation von passenden Peptiden („Motivpeptiden“) auf der Zelloberfläche. *HLA* Humanes Leukozytenantigen

Darüber hinaus präsentieren Tumorzellen viele weitere tumorspezifische Peptide, die keine Mutationen aufweisen, aber auf normalen Zellen nicht vorkommen [27]. Eine solche krebsspezifische Peptidpräsentation kann viele unterschiedliche Ursachen haben [18], mehrheitlich sind diese aber noch nicht hinreichend erforscht.

Tumorspezifische Peptide – unabhängig davon, ob sie durch Mutation oder andere zelluläre Ereignisse entstehen – wären ideale Kandidaten für eine therapeutische Vakzinierung. Dabei gibt es jedoch zwei maßgebliche Hindernisse, die bisher einen wesentlichen Erfolg verhindern haben:

- In jedem Menschen sind diese Peptide anders, und zwar sowohl aufgrund der Verschiedenheit unterschiedlicher maligner Zellen als auch wegen des ausgeprägten Polymorphismus der HLA-Gene.
- In klinischen Studien ist es bisher praktisch nicht gelungen, durch Vakzinierung bei Patienten effektive T-Zell-Antworten gegen solche Peptide hervorzurufen, vermutlich wegen des Fehlens geeigneter Adjuvantien.

Das System der humanen Leukozytenantigene und die Antigenpräsentation

Das HLA-System ist bekannt wegen der Notwendigkeit der HLA-Übereinstimmung im Rahmen von Transplantationen, insbesondere bei hämatopoetischen Stammzellen. Die physiologische Funktion von HLA-Molekülen ist aber, Antigene für die Erkennung durch T-Zellen zu präsentieren (▣ **Abb. 1**). Fast alle Zellen eines Menschen exprimieren HLA-Moleküle der Klasse I, das sind HLA-A, HLA-B und HLA-C. Diese HLA-Gene sind äußerst polymorph; für jeden der drei Loci sind Tausende von verschiedenen Allelen bekannt, insgesamt derzeit über 18.000 [25]. Die meisten Menschen sind für diese Loci heterozygot und exprimieren zwei verschiedene Allelprodukte, etwa HLA-A*02 (das häufigste Allel) und HLA-A*11. HLA-Klasse-I-Moleküle präsentieren zelluläre Peptide, meist aus 9 Aminosäuren, mit bestimmten Sequenzeigenschaften („Motiv“); HLA-A*02-Peptide haben beispielsweise die Aminosäure Leucin oder Isoleucin häufig an Position 2 und 9. HLA-A*11-Peptide weisen hingegen oft

aliphatische Aminosäuren an Position 2 auf, aber ein Lysin oder Arginin an Position 9. Solche HLA-Klasse-I-präsentierten Peptide werden von CD8⁺-T-Zellen erkannt. Einen visuellen Eindruck von der funktionellen Vielfalt der HLA-Moleküle bei verschiedenen Menschen vermittelt ▣ **Abb. 2**.

» Jeder Mensch präsentiert eine individuelle Stichprobe des zellulären Peptidspektrums auf den HLA-Molekülen

Diese Zusammenhänge sind für die Suche nach krebsspezifischen Antigenen von großer Bedeutung, da jeder Mensch eine individuelle Stichprobe des zellulären Peptidspektrums auf den HLA-Molekülen zeigt und so für seine eigenen T-Zellen erkennbar macht. Damit ist beispielsweise zu erklären, warum bei vielen Tumoren das Gen *KRAS* als „onkogener Driver“ mutiert ist, aber nur selten als Peptid auf HLA präsentiert wird und ebenso warum von Tausenden von Mutationen, etwa beim Melanom, nur ein kleiner Anteil auf den HLA-Mo-

lekülen des Patienten präsentiert wird [2]. Das Gleiche gilt außerdem für tumorspezifische Peptide, die nicht von Mutationen abgeleitet sind.

Die HLA-Klasse-II-Moleküle (HLA-DR, -DQ und -DP) sind zwar mit etwas über 7000 Allelen nicht ganz so polymorph und in ihren Peptidmotiven etwas weniger strikt. Das führt aber ebenfalls dazu, dass über HLA-Klasse II nur eine Auswahl der tumorspezifischen Proteinveränderungen den T-Zellen präsentiert werden kann. HLA-Klasse-II-präsentierte Peptide werden von CD4⁺-T-Zellen erkannt.

In der Entwicklung von Strategien zur therapeutischen Tumorzellvakzinierung macht dieser Umstand ein personalisiertes Vorgehen erforderlich, um geeignete tumorspezifische HLA-Peptide zu charakterisieren.

Identifikation tumorspezifischer Peptide

Gängiges Vorgehen ist es, aus Proteinen, die man für krebstypisch hält, über die auf den entsprechenden HLA-Motiven basierenden Vorhersagemethoden [4] *in silico* die für den jeweiligen Patienten passenden Peptide zu bestimmen. Diese müssten dann eigentlich mit handfesten Methoden – entweder mit T-Zell-Tests oder mittels Massenspektrometrie – bestätigt werden, um sicherzustellen, dass die Vorhersagen korrekt waren. Wenn dies unterbleibt, ist die Wahrscheinlichkeit hoch, dass im Patienten T-Zellen induziert werden, die zwar kräftig mit solchen Peptiden reagieren, aber völlig unnützlich sind, da die Zielstrukturen auf den Tumorzellen überhaupt nicht vorhanden sind.

Die ersten tumorspezifischen Peptide wurden gefunden, indem in Patienten spontan entstandene T-Zellen auf ihre Spezifität hin untersucht wurden. Dabei wurden unter anderem die sogenannten Cancer-testis-Antigene entdeckt, die zwar in vielen Tumoren exprimiert werden, jedoch wegen des HLA-Polymorphismus in jedem Menschen mit unterschiedlichen Peptiden. Ebenso wurden Differenzierungsantigene entdeckt, die zwar nicht tumor-, sondern gewebe-spezifisch sind, aber wie beispielsweise

bei prostataspezifischen Antigenen sonst nur auf „entbehrlichen“ Zellen vorkommen.

Die derzeit verfügbare rationale Methode der Wahl ist jedoch, die Tumorzellen eines Patienten mittels Massenspektrometrie direkt auf HLA-präsentierte Peptide hin zu untersuchen, die auf normalem Gewebe nicht vorkommen. Das hört sich einfach an und ist es im Prinzip auch, allerdings ist es unmöglich, vom selben Patienten Proben aus (allen) Normalgeweben zu gewinnen. Ein Behelf ist es aber, möglichst die Gesamtheit aller HLA-präsentierten Peptide aller Gewebe von vielen Menschen mit allen oder zumindest mit den häufigsten HLA-Allelen zu bestimmen. Mit einer solchen – sehr großen – Datenbank ist es dann möglich, neu gefundene Peptide auf Tumorzellen einer gegebenen HLA-Typisierung als tumorspezifisch zuzuordnen. Dann muss noch getestet werden, ob im betreffenden Patienten T-Zellen mit passendem Rezeptor existieren. Das ist häufig tatsächlich der Fall [14].

Induktion einer effektiven Immunantwort im Patienten

Was die T-Zellen erkennen sollen, sind immer HLA-präsentierte Peptide, mit denen man zum einen direkt immunisieren kann. Es gibt aber zum anderen zahlreiche komplexere Antigenzubereitungen, in denen die tumorspezifischen Antigene enthalten sind (DNA, RNA, rekombinante Proteine, Viruskonstrukte, bakterielle Konstrukte), sowie undefinierte tumorzellbasierte Zubereitungen. In jedem Fall stellt sich das Problem des Applikationswegs und der Wahl eines geeigneten Adjuvans. Sehr effiziente Wege sind hier Viruskonstrukte, die aber das Problem aufweisen, auch Immunantworten gegen den Vektor zu induzieren, RNA-Formulierungen [1, 23], die i.v. oder i.m. appliziert werden, und Peptide mit geeigneten Adjuvanzen wie Toll-like-Rezeptor(TLR)-Agonisten in Wasser-Öl-Emulsion. Dazu gehören der TLR-9-Agonist CpG [3] und der TLR-2-Agonist PAM3Cys [22].

Internist 2020 · 61:690–698
<https://doi.org/10.1007/s00108-020-00814-z>
 © Der/die Autor(en) 2020

H.-G. Rammensee · M. W. Löffler ·
 J. S. Walz · C. Bokemeyer · S. P. Haen ·
 C. Gouttefangeas

Tumorzellvakzinierung – therapeutische Vakzinierung gegen Krebs

Zusammenfassung

Tumorzellen weisen immer Veränderungen im Vergleich zu normalen Zellen auf. Die Veränderungen können vom Immunsystem erkannt werden, was zur Zerstörung der Tumorzellen durch T-Zellen führen kann. Der Erfolg der Immuncheckpointinhibition beispielsweise beim malignen Melanom hat dies eindrucksvoll gezeigt. Viele Tumorerkrankungen sprechen jedoch nicht auf eine solche Therapie an. Hier könnte eine Vakzinierung gegen Tumorantigene hilfreich sein. Allerdings waren alle Bestrebungen in den letzten 30 Jahren praktisch erfolglos. Mit den heutigen Kenntnissen besteht jedoch neue Hoffnung.

Schlüsselwörter

DNA-Vakzinen · RNA-Vakzinen ·
 Peptidvakzinen · Tumorantigene ·
 Immunologische Adjuvanzen

Tumor vaccines—therapeutic vaccination against cancer

Abstract

Tumor cells always exhibit differences to normal cells. These differences can be recognized by the immune system, enabling the destruction of tumor cells by T cells, as was impressively demonstrated by the success of immune checkpoint inhibition, e.g., in malignant melanoma. Many cancers, however, do not respond to this kind of therapy. In these cases, vaccination against tumor antigens could be very helpful. Nevertheless, all of the efforts made in this respect during the past 30 years have been virtually futile. With current knowledge and technology there is new hope.

Keywords

Vaccines, DNA · Vaccines, RNA · Vaccines, peptide · Antigens, neoplasm · Adjuvants, immunologic

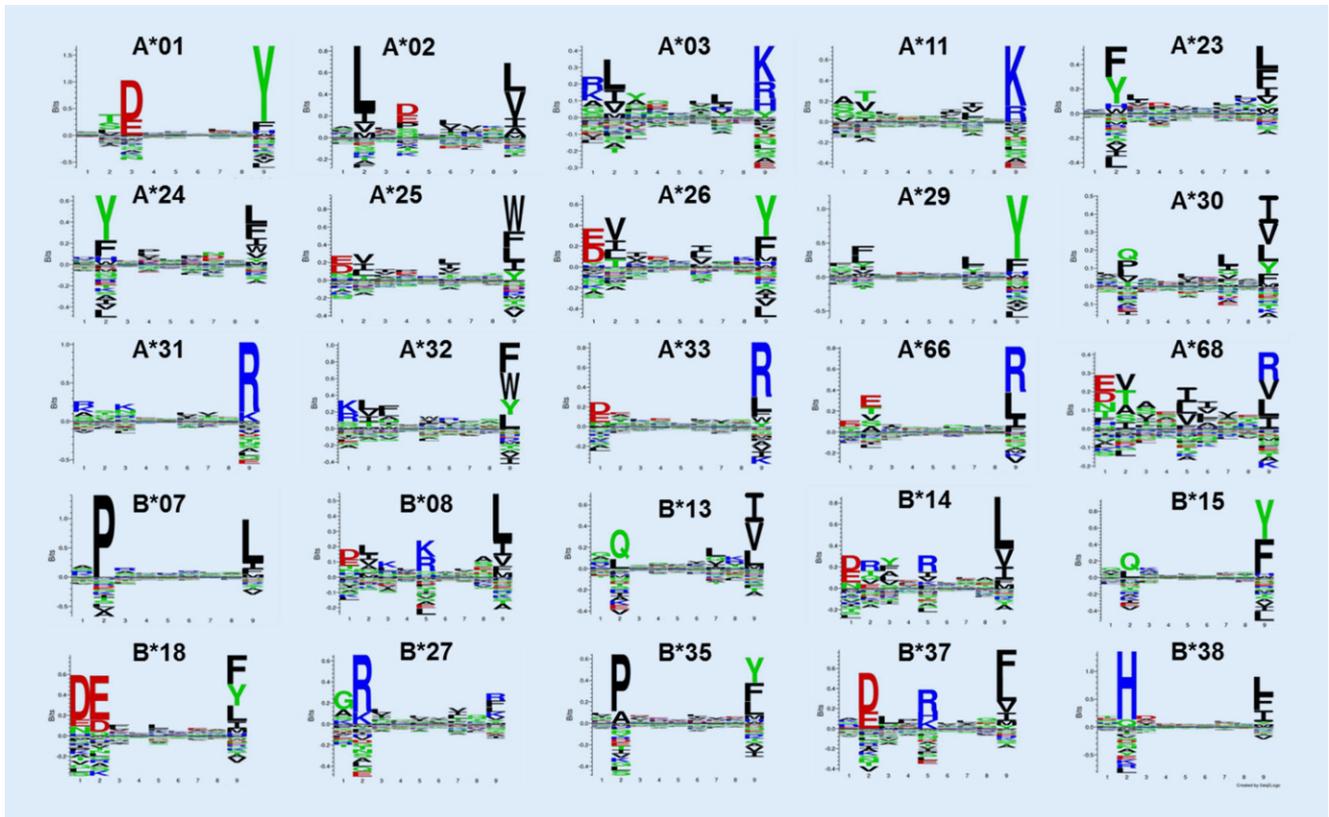


Abb. 2 ▲ Frequenz unterschiedlicher Aminosäuren abhängig vom entsprechenden HLA-Klasse-I-Allel. Die Größe der im Einbuchstaben-Code angegebenen Aminosäuren korreliert mit der beobachteten Frequenz verschiedener Aminosäuren an der entsprechenden Position eines 9-mer-Peptids abhängig vom jeweils angegebenen HLA-Allel. *HLA* Humanes Leukozytenantigen. (Aus [8])

Vorläufige Erfolgskontrolle durch Immunmonitoring

Die Bewertung der Wirksamkeit des Tumorimpfstoffs erfolgt auf zwei Arten. Das ultimative Ziel ist, eine verbesserte oder vollständige Kontrolle des Tumorwachstums bei behandelten Patienten zu erreichen. Die Tumorkontrolle wird mithilfe routinemäßiger klinischer, laborchemischer und bildgebender Verfahren beurteilt. Eine zweite wesentliche Maßnahme ist die Beurteilung der Fähigkeit des Impfstoffs, bei den Patienten vakzinspezifische T-Zell-Antworten auszulösen, eine Vorgehensweise, die als Immunmonitoring bezeichnet wird.

Für das *In-vitro*-Immunmonitoring werden in regelmäßigen Abständen vor, während und nach Abschluss der Impfung Blutproben entnommen (Abb. 3). Vorzugsweise werden periphere mononukleäre Zellen, die die T-Zellen beinhalten, aus dem Blut isoliert und zunächst kryokonserviert. Für die Mes-

sung von peptidspezifischen T-Zellen stehen mehrere *In-vitro*-Tests zur Verfügung. Am häufigsten werden „enzyme-linked immunospot assays“ (ELISPOT) und die Durchflusszytometrie angewendet, die zusammengenommen eine quantitative und qualitative Bewertung der T-Zell-Aktivität ermöglichen. Das Immunmonitoring ist entscheidend für die Bestimmung der Immunogenität des Impfstoffs (beispielsweise von Peptiden), des Einflusses verschiedener Adjuvantien und der Aufrechterhaltung der T-Zellen über das Ende der Impfphase hinaus. Daher könnten die Ergebnisse des Immunmonitorings für klinische Entscheidungen bei einzelnen Patienten Relevanz gewinnen und sich auf das Design von Impfstoffstudien der nächsten Generation auswirken. Entsprechend ist es sehr wichtig, robuste und qualitativ hochwertige Assays zu etablieren, die im Laufe der Zeit stabile Ergebnisse liefern und einen angemessenen Vergleich zwischen verschiedenen Patienten und

Studien ermöglichen. In naher Zukunft könnte das Immunmonitoring als früher Biomarker mit klinisch prädiktivem Nutzen eingesetzt werden [5].

Bisherige Bemühungen

In der klinischen Medizin spielen therapeutische Vakzinen gegen Tumoren bisher keine relevante Rolle, wohingegen prophylaktische Impfungen gegen Krankheitserreger laut Robert Koch-Institut die wichtigste präventive Maßnahme der modernen Medizin darstellen. Obwohl seit Jahrzehnten im Bereich der Tumorimpfung intensiv geforscht wird, zeichnen sich noch immer keine klaren klinischen Erfolge ab und das Feld bleibt komplex und inhomogen. Dass das Immunsystem aber prinzipiell in der Lage ist, maligne Tumoren unter Kontrolle zu halten, unterstreichen die Erfolge, die mit ICI erzielt werden können. Aber auch hier ist weiterhin Raum für Verbesserungen, da ICI bislang nur bei einigen

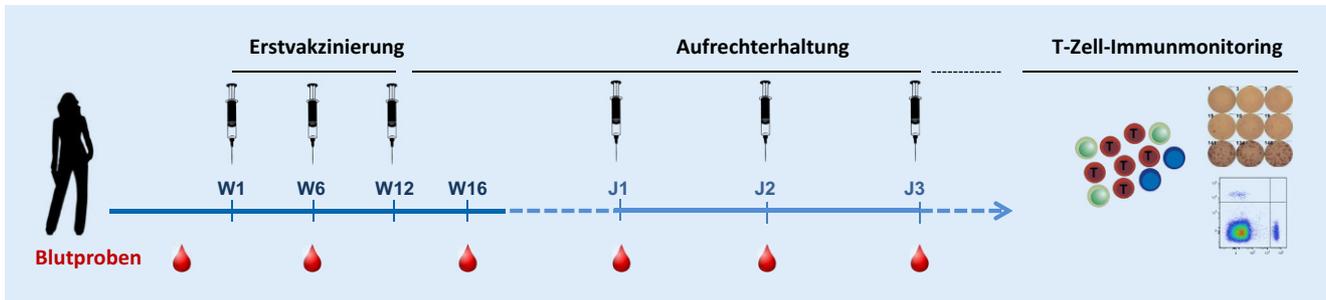


Abb. 3 ▲ Schematische Darstellung des Immunmonitorings im Verlauf einer Peptidvakzinierung. W Woche; J Jahr

Tumorentitäten und Patienten verfügbar und effektiv sind.

Als Vakzinierungsstrategien kommen wie oben beschrieben grundsätzlich sehr unterschiedliche Plattformen infrage. Die gewünschten Antigene können dabei als „genetische“ Vakzinen in Form von DNA oder RNA codiert vorliegen, aber auch Peptide verschiedener Länge umfassen und zellbasiert eingesetzt werden, beispielsweise unter Verwendung viraler Vektoren oder auch beladener dendritischer Zellen. So finden sich etwa aktuelle klinische Studien, die unterschiedlich gut etablierte und standardisierte Tumorantigene wie NY-ESO-1, MART-1 und WT1 in antigenpräsentierenden Zellen verwenden [11]. Obwohl hier durchweg ein immunologisches Ansprechen berichtet wird und Patienten teilweise sogar randomisiert wurden, können die klinischen Resultate dieser zumeist frühphasigen Studien mit kleinen Fallzahlen (noch) nicht überzeugen.

Auswahl der Zielantigene

Ein Problem, das zwar grundsätzlich auf jede Tumorkvakzine zutrifft, sich aber mit besonderem Nachdruck für die Peptidimpfung stellt, ist die präzise Auswahl der Zielantigene. Dabei gibt es die Möglichkeit, lediglich einzelne definierte Antigene zu selektieren oder aber eine spezielle Auswahl davon. Solche Peptide können dann als kurze Peptide, wie sie natürlicherweise auf HLA-Klasse-I-Molekülen präsentiert werden, oder aber in verlängerter Form verwendet werden, in der Annahme, dass diese dann weiter prozessiert werden und zu definierten Immunantworten führen.

Aktuell publizierte Studien zu Einzelantigenen können zwar regelhaft ein

positives immunologisches Ergebnis vorweisen (Zusatzmaterial online, Tab. S1), führten jedoch häufig nicht zu einem relevanten klinischen Nutzen [28]. Viele Faktoren sprechen darum für den Einsatz von multiplen Antigenen sowie für den kombinierten Einsatz von HLA-Klasse-I- und -II-Peptiden, um eine zusätzliche CD4⁺-T-Zell-Antwort zu induzieren. Eine Einschränkung für „kurze“ HLA-Klasse-I-definierte Antigene ist der individuelle HLA-Typ des Patienten. Dies kann durch Stratifizierung der Patienten nach den entsprechenden HLA-Alлотypen adressiert werden, wenn vorgefertigte Peptidvakzincocktails verwendet werden. Studien mit Multipeptidvakzinen wurden in der Vergangenheit bereits durchgeführt und erste vielversprechende Ergebnisse wurden berichtet [20, 30], insbesondere beim Nierenzellkarzinom [29]. Eine randomisierte, kontrollierte Phase-III-Studie konnte aber weder starke Immunantworten noch eine klinische Wirksamkeit belegen [24]. In der Nachschau wurde unter anderem der – im Gegensatz zu früheren Studienphasen – zusätzlich verwendete Tyrosinkinaseinhibitor Sunitinib als einer der potenziellen Gründe für das Versagen der Vakzine identifiziert, da präklinische Daten zeigen, dass solche Arzneimittel die Induktion peptidspezifischer T-Zellen unterdrücken können [12].

» Welche Antigene sich beim individuellen Patienten am besten eignen, ist eine hochaktuelle Frage

In Vakzinierungsstudien, die den Einsatz langer synthetischer Peptide unter-

suchten, konnte beispielsweise für Frühformen des Vulvakarzinoms eine Wirksamkeit berichtet werden. Hier gilt es allerdings zu beachten, dass sich diese Immunität primär gegen das humane Papillomvirus HPV-16 und damit das verursachende Virus richtet [13]. Des Weiteren wurde mit langen Peptiden versucht, eine patientenindividuelle Immunantwort gegen Tumoren zu erzielen [21]. Dabei umfassten die Zielstrukturen mutierte Bereiche, gegen die überwiegend CD4⁺-T-Zell-Antworten ausgelöst werden konnten, lediglich bei 16% der geimpften Peptide kam es zu CD8⁺-T-Zell-Antworten. Allerdings ist die klinische Aussagekraft bei 6 behandelten Patienten mit Melanom, die teilweise zusätzlich eine ICI-Behandlung erhielten, noch eingeschränkt. Ähnliches gilt für eine Studie zu einer personalisierten RNA-basierten Vakzine, in der ebenfalls multiple vorhergesagte Antigene aus patientenindividuellen Mutationen als Zielstrukturen gewählt und in der Erstanwendung am Menschen untersucht wurden [26]. Die Studie berichtet über 13 Patienten mit Melanom und belegt jeweils vakzinspezifische T-Zell-Antworten. Bei 2 Patienten konnten darüber hinaus eine Infiltration des Tumors mit den spezifischen T-Zellen und deren zytotoxisches Potenzial *ex vivo* nachgewiesen werden. Letztlich zeigen diese beiden vielversprechenden Studien, dass die individuelle Formulierung eines Arzneimittels als Tumorkvakzine grundsätzlich möglich ist und dass sich in Tumorerkrankungen mit hoher Mutationslast wie beispielsweise beim malignen Melanom – etwa mit maschinellem Lernen [21] – möglicherweise sinnvolle Zielstrukturen definieren lassen, deren klinische Relevanz allerdings bislang nicht klar belegt ist. Da die Fallzahlen bisher gering

sind, bleibt unklar, inwieweit diese Ansätze beispielsweise nur gemeinsam mit ICI wirksam oder Letzteren sogar überlegen sind. So lassen sich etwa massenspektrometrisch in Tumoren mit hoher Mutationslast HLA-präsentierte mutierte Peptide nachweisen [2], dies gelingt aber in Tumoren mit geringerer Mutationslast nur im Ausnahmefall [17, 19]. Daher bleibt sicherlich weiterhin die Frage hochaktuell, welche Antigene bei einzelnen Tumorentitäten und beim individuellen Patienten am besten geeignet sind [9] und wie bzw. mit welchen Adjuvantien eine effektive Immunantwort generiert werden kann, die auch klinische Wirksamkeit zeigt.

Der Schlüssel zu einer effektiven Nutzung von Vakzinen scheint deshalb ein detailliertes Wissen über die immunologischen Grundlagen und den individuellen Tumor zu sein, zudem die Kombination mit effektiven Adjuvantien und die Wahl geeigneter Kombinationstherapien. Außerdem ist es für das Erzielen einer Wirksamkeit essenziell, die jeweilige Therapieindikation (unter anderem auch die Therapielinie) und die zu behandelnde Tumorentität mit Bedacht zu wählen, um das körpereigene Immunsystem für diese wichtige Aufgabe effektiv zu modulieren.

Ideales Vorgehen aus Sicht der Autoren

Das im Folgenden vorgeschlagene Vorgehen zur Auswahl, Herstellung und Applikation einer personalisierten Peptidvaccine basiert auf den oben beschriebenen Voraussetzungen und Erkenntnissen der letzten Jahre, insbesondere auch auf eigenen Arbeiten der Autoren.

Den Patienten wird eine autologe Tumorseite entnommen sowie wenn möglich auch Normalgewebe vom gleichen Organ. Die auf den HLA-Molekülen präsentierten Peptide werden per Flüssigchromatographie aufgetrennt und per Massenspektrometrie identifiziert. Mit der derzeitigen Technologie finden sich sowohl auf HLA-Klasse I als auch in vielen Fällen auf HLA-Klasse II etwa 5000 oder mehr Peptide pro Gewebeprobe [2, 7]. Durch Vergleich der Peptide von Tumor- und Normalgewebe des jeweili-

gen Patienten sowie durch Vergleich mit Peptiden von Geweben anderer Individuen aus vorhandenen Datenbanken (z. B. <https://hla-ligand-atlas.org>) werden dann diejenigen Peptide bestimmt, die für eine personalisierte Vakzinierung geeignet erscheinen. Da es bei diesem Vorgehen der Erfahrung der Autoren zufolge jeweils Dutzende von Peptiden gibt, die nur auf dem individuellen Tumor des Patienten gefunden werden, also tumorspezifisch sind, werden daraus Peptide nach weiteren Kriterien ausgesucht, unter anderem danach, ob eine Immunogenität der Peptide bereits zuvor nachgewiesen wurde oder ob die Peptide aus Proteinen stammen, die bekannterweise eine Rolle in tumorassoziierten Stoffwechselwegen spielen [16]. Parallel erfolgt die genetische Sequenzierung der Tumorproben mit dem Ziel, tumorspezifische Mutationen zu finden. Hierauf basierend erfolgt in Zusammenschau mit dem individuellen HLA-Typ des Patienten eine Vorhersage potenzieller Neoepitope, deren natürliche Präsentation anschließend massenspektrometrisch evaluiert wird. Falls vorhanden können solche Neoepitope die oben beschriebene Auswahl nichtmutierter Tumorantigene ergänzen.

» Im Kontext der Tumorstimmung muss über geeignete Kombinationstherapien nachgedacht werden

Anschließend wird eine Auswahl von bis zu 10 Peptiden mit Adjuvantien unter Good-Manufacturing-Practice-Bedingungen hergestellt, mit einem geeigneten Träger kombiniert und dann als personalisiertes Arzneimittel („mixing kit“) an den behandelnden Arzt abgegeben. Eine klinische Studie bei Patienten mit Glioblastom zeigte kürzlich, dass ein solches Vorgehen prinzipiell möglich ist [10]. In dieser Studie wurden nach mehrmaligen Injektionen starke vakzinspezifische T-Zell-Antworten nachgewiesen. Weitere Studien, die eine patientenindividuelle Multipeptidvakzinierung basierend auf Mutationsanalysen bzw. massenspektrometrischen Analysen untersuchen,

rekrutieren aktuell noch. Das vermutlich für Peptidvakzinierungen besonders gut geeignete Adjuvans XS15 [22] befindet sich derzeit in der pharmazeutischen Entwicklung und soll zeitnah in einer ersten klinischen Studie getestet werden. Gemäß der Ergebnisse der Autoren kann nach einer einmaligen Vakzinierung mit Peptiden und XS15 in dem inkompletten Freund-Adjuvans Montanide™ (Seppic, Paris, Frankreich) eine starke, das heißt *ex vivo* direkt messbare T-Zell-Antwort erzielt werden, die für mindestens 18 Monate nachweisbar ist.

Des Weiteren sollten vor Herstellung und Verabreichung einer solchen Peptidvaccine genau der Zeitpunkt und damit die möglichen Begleittherapien während einer Peptidvakzinierung bedacht werden. Eine sinnvolle Anwendung ist nur möglich, wenn ein geeignetes Verhältnis von Effektor-T-Zellen und Zielzellen vorliegt, wie es beispielsweise im adjuvanten Setting nach einer Operation oder nach einer remissionsinduzierenden Standardtherapie mit Vorhandensein einzelner Resttumorzellen der Fall ist. In jedem Fall muss aber auch über geeignete Kombinationstherapien nachgedacht werden, die im besten Fall die Immunantwort optimieren [15].

Eine basierend auf all diesen Überlegungen entwickelte personalisierte Peptidimpfung für den individuellen Tumorpatienten hat das Potenzial, zukünftig die Induktion klinisch effektiver T-Zell-Antworten zu ermöglichen.

Fazit für die Praxis

- Jeder Mensch zeigt eine individuelle Stichprobe des zellulären Peptidspektrums auf den HLA-Molekülen. Das macht ein personalisiertes Vorgehen erforderlich, um geeignete tumorspezifische HLA-Peptide zu charakterisieren.
- In klinischen Studien ist es bisher allerdings praktisch nicht gelungen, durch Vakzinierung effektive T-Zell-Antworten gegen solche Peptide hervorzurufen.
- Viele Faktoren sprechen dafür statt Einzelantigenen multiple Antigene einzusetzen und HLA-Klasse-I- und -II-Peptide zu kombinieren, um eine

zusätzliche CD4⁺-T-Zell-Antwort zu induzieren.

- Das Immunmonitoring ist entscheidend für die Bestimmung der Immunogenität des Impfstoffs, des Einflusses verschiedener Adjuvanzen und der längerfristigen Aufrechterhaltung der T-Zellen.
- Der Schlüssel zu einer effektiven Nutzung von Vakzinen scheint ein detailliertes Wissen über die immunologischen Grundlagen und den individuellen Tumor zu sein. Wichtig sind zudem die Kombination mit effektiven Adjuvanzen und die Wahl geeigneter Kombinationstherapien.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. H.-G. Rammensee

Interfakultäres Institut für Zellbiologie (IFIZ),
Abteilung Immunologie, Eberhard Karls
Universität Tübingen
Auf der Morgenstelle 15, 72076 Tübingen,
Deutschland
rammensee@uni-tuebingen.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. H.-G. Rammensee weist auf folgende Beziehung(en) hin: S.P. Haen, M.W. Löffler, J.S. Walz und H.-G. Rammensee sind Erfinder von Patenten, die immatics Biotechnologies GmbH gehören. H.-G. Rammensee ist Gründer und Mitglied des wissenschaftlichen Beirats der Biotechnologieunternehmen immatics GmbH, CureVac AG und Synimmune GmbH sowie beteiligt an einer Patentanmeldung für das Adjuvans XS15. M.W. Löffler, J.S. Walz, C. Bokemeyer, S.P. Haen und C. Gouttefangeas geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autoren keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

Open Access. Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Ma-

terials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.

Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Literatur

1. Alberer M, Gnad-Vogt U, Hong HS, Mehr KT, Backert L, Finak G, Gottardo R, Bica MA, Garofano A, Koch SD, Fotin-Mleczek M, Hoerr I, Clemens R, von Sonnenburg F (2017) Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults: an open-label, non-randomised, prospective, first-in-human phase 1 clinical trial. *Lancet* 390:1511–1520
2. Bassani-Sternberg M, Bräunlein E, Klar R, Engleitner T, Sinitcyn P, Audehm S, Straub M, Weber J, Slotta-Huspenina J, Specht K, Martignoni ME, Werner A, Hein R, Busch DH, Peschel C, Rad R, Cox J, Mann M, Krackhardt AM (2016) Direct identification of clinically relevant neopeptides presented on native human melanoma tissue by mass spectrometry. *Nat Commun* 7:13404
3. Baumgaertner P, Jandus C, Rivals JP, Derre L, Lovgren T, Baitsch L, Guillaume P, Luescher IF, Berthod G, Matter M, Rufer N, Michielin O, Speiser DE (2012) Vaccination-induced functional competence of circulating human tumor-specific CD8 T-cells. *Int J Cancer* 130:2607–2617
4. Boegel S, Castle JC, Kodysh J, O'Donnell T, Rubinsteyn A (2019) Bioinformatic methods for cancer neoantigen prediction. *Prog Mol Biol Transl Sci* 164:25–60
5. Britten CM, van der Burg SH, Gouttefangeas C (2015) A framework for T cell assays. *Oncotarget* 6:35143–35144
6. Chabanon RM, Pedrero M, Lefebvre C, Marabelle A, Soria JC, Postel-Vinay S (2016) Mutational landscape and sensitivity to immune checkpoint blockers. *Clin Cancer Res* 22:4309–4321
7. Freudenmann LK, Marcu A, Stevanović S (2018) Mapping the tumour human leukocyte antigen (HLA) ligandome by mass spectrometry. *Immunology* 154:331–345
8. Ghosh M, Di Marco M, Stevanović S (2019) Identification of MHC ligands and establishing MHC class I peptide motifs. *Methods Mol Biol* 1988:137–147
9. Gubin MM, Schreiber RD (2015) The odds of immunotherapy success. *Science* 350:158–159
10. Hiif N, Kuttruff-Coqui S, Frenzel K, Bukur V, Stevanović S, Gouttefangeas C, Platten M, Tabatabai G, Dutoit V, van der Burg SH, Thor Straten P, Martínez-Ricarte F, Ponsati B, Okada H, Lassen U, Admon A, Ottensmeier CH, Ulges A, Kreiter S, von Deimling A, Skardelly M, Migliorini D, Kroep JR, Idorn M, Rodon J, Piró J, Poulsen HS, Shraibman B, McCann K, Mendrzyk R, Löwer M, Stieglbauer M, Britten CM, Capper D, Welters MJP, Sanhuquillo J, Kiesel K, Derhovanessian E, Rusch E, Bahu L, Song C, Heesch S, Wagner C, Kemmer-Brück A, Ludwig J, Castle JC, Schoor O, Tadmor AD, Green E, Fritsche J, Meyer M, Pawlowski N, Dorner S, Hoffgaard F, Rössler B, Maurer D, Weinschenk T, Reinhardt C, Huber C, Rammensee HG, Singh-Jasuja H, Sahin U, Dietrich PY, Wick W (2019) Actively personalized vaccination trial for newly diagnosed glioblastoma. *Nature* 565:240–245
11. Ito Z, Kan S, Bito T, Horiuchi S, Akasu T, Yoshida S, Kajihara M, Hokari A, Saruta M, Yoshida N, Kobayashi M, Ohkusa T, Shimodaira S, Okamoto M, Sugiyama H, Koido S (2019) Predicted markers of overall survival in pancreatic cancer patients receiving dendritic cell vaccinations targeting WT1. *Oncology* 97:135–148
12. Jaini R, Rayman P, Cohen PA, Finke JH, Tuohy VK (2014) Combination of sunitinib with anti-tumor vaccination inhibits T cell priming and requires careful scheduling to achieve productive immunotherapy. *Int J Cancer* 134:1695–1705
13. Kenter GG, Welters MJ, Valentijn AR, Lowik MJ, Berends-van der Meer DM, Vloon AP, Essahsah F, Fathers LM, Offringa R, Drijfhout JW, Wafelman AR, Oostendorp J, Fleuren GJ, van der Burg SH, Melief CJ (2009) Vaccination against HPV-16 oncoproteins for vulvar intraepithelial neoplasia. *N Engl J Med* 361:1838–1847
14. Kowalewski DJ, Schuster H, Backert L, Berlin C, Kahn S, Kanz L, Salih HR, Rammensee HG, Stevanović S, Stichel JS (2015) HLA ligandome analysis identifies the underlying specificities of spontaneous antileukemia immune responses in chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Proc Natl Acad Sci U S A* 112:E166–E175
15. Kowalewski DJ, Walz S, Backert L, Schuster H, Kohlbacher O, Weisel K, Rittig SM, Kanz L, Salih HR, Rammensee HG, Stevanović S, Stichel JS (2016) Carfilzomib alters the HLA-presented peptidome of myeloma cells and impairs presentation of peptides with aromatic C-termini. *Blood Cancer J* 6:e411
16. Löffler MW, Kowalewski DJ, Backert L, Bernhardt J, Adam P, Schuster H, Dengler F, Backes D, Kopp HG, Beckert S, Wagner S, Königsrainer I, Kohlbacher O, Kanz L, Königsrainer A, Rammensee HG, Stevanović S, Haen SP (2018) Mapping the HLA ligandome of colorectal cancer reveals an imprint of malignant cell transformation. *Cancer Res* 78:4627–4641
17. Löffler MW, Mohr C, Bichmann L, Freudenmann LK, Walzer M, Schroeder CM, Trautwein N, Hilke FJ, Zinser RS, Mühlenbruch L, Kowalewski DJ, Schuster H, Sturm M, Matthes J, Riess O, Czernomir S, Nahnsen S, Königsrainer I, Thiel K, Nadalin S, Beckert S, Bösmüller H, Fend F, Velic A, Maček B, Haen SP, Buonaguro L, Kohlbacher O, Stevanović S, Königsrainer A, Rammensee HG (2019) Multi-omics discovery of exome-derived neoantigens in hepatocellular carcinoma. *Genome Med* 11:28
18. Marijt KA, Blijleven L, Verdegaal EME, Kester MG, Kowalewski DJ, Rammensee HG, Stevanović S, Heemskerk MHM, van der Burg SH, van Hall T (2018) Identification of non-mutated neoantigens presented by TAP-deficient tumors. *J Exp Med* 215:2325–2337
19. Newey A, Griffiths B, Michaux J, Pak HS, Stevenson BJ, Woolston A, Semiannikova M, Spain G, Barber LJ, Matthews N, Rao S, Watkins D, Chau I, Coukos G, Racle J, Gfeller D, Starling N, Cunningham D, Bassani-Sternberg M, Gerlinger M (2019) Immunopeptidomics of colorectal cancer organoids reveals a sparse HLA class I neoantigen landscape and no increase in neoantigens with interferon- α /MEK-inhibitor treatment. *J Immunother Cancer* 7:309
20. Noguchi M, Matsumoto K, Uemura H, Arai G, Eto M, Naito S, Ohyama C, Nasu Y, Tanaka M, Moriya F, Suekane S, Matsueda S, Komatsu N, Sasada T, Yamada A, Kakuma T, Itoh K (2016) An open-label, randomized phase II trial of personalized peptide vaccination in patients with bladder cancer that progressed after platinum-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 22:54–60
21. Ott PA, Hu Z, Keskin DB, Shukla SA, Sun J, Bozym DJ, Zhang W, Luoma A, Giobbie-Hurder A, Peter L, Chen C, Olive O, Carter TA, Li S, Lieb DJ, Eisenhaure T, Gjini E, Stevens J, Lane WJ, Javeri I,

- Nellaiappan K, Salazar AM, Daley H, Seaman M, Buchbinder EI, Yoon CH, Harden M, Lennon N, Gabriel S, Rodig SJ, Barouch DH, Aster JC, Getz G, Wucherpfennig K, Neuberger D, Ritz J, Lander ES, Fritsch EF, Hacohen N, Wu CJ (2017) An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma. *Nature* 547:217–221
22. Rammensee HG, Wiesmüller KH, Chandran PA, Zelba H, Rusch E, Gouttefangeas C, Kowalewski DJ, Di Marco M, Haen SP, Walz JS, Gloria YC, Bödder J, Schertel JM, Tunger A, Müller L, Kiessler M, Wehner R, Schmitz M, Jakobi M, Schneiderhan-Marra N, Klein R, Laske K, Artzner K, Backert L, Schuster H, Schwenck J, Weber ANR, Pichler BJ, Kneilling M, la Fougère C, Forchhammer S, Metzler G, Bauer J, Weide B, Schippert W, Stevanović S, Löffler MW (2019) A new synthetic toll-like receptor 1/2 ligand is an efficient adjuvant for peptide vaccination in a human volunteer. *J Immunother Cancer* 7:307
 23. Reinhardt K, Rengstl B, Oehm P, Michel K, Billmeier A, Hayduk N, Klein O, Kuna K, Ouchan Y, Wöll S, Christ E, Weber D, Suchan M, Bukur T, Birtel M, Jahndel V, Mroz K, Hobohm K, Kranz L, Diken M, Kühlcke K, Türeci O, Sahin U (2020) An RNA vaccine drives expansion and efficacy of claudin-CAR-T cells against solid tumors. *Science* 367(6476):446–453
 24. Rini BI, Stenzl A, Zdrojowy R, Kogan M, Shkolnik M, Oudard S, Weikert S, Bracarda S, Crabb SJ, Bedke J, Ludwig J, Maurer D, Mendrzyk R, Wagner C, Mahr A, Fritsche J, Weinschenk T, Walter S, Kirner A, Singh-Jasuja H, Reinhardt C, Eisen T (2016) IMA901, a multi-peptide cancer vaccine, plus sunitinib versus sunitinib alone, as first-line therapy for advanced or metastatic renal cell carcinoma (IMPRINT): a multicentre, open-label, randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 17:1599–1611
 25. Robinson J, Halliwell JA, Hayhurst JD, Flicek P, Parham P, Marsh SG (2015) The IPD and IMGT/HLA database: allele variant databases. *Nucleic Acids Res* 43:D423–D431
 26. Sahin U, Derhovanessian E, Miller M, Kloke BP, Simon P, Löwer M, Bukur V, Tadmor AD, Luxemburger U, Schrörs B, Omokoko T, Vormehr M, Albrecht C, Paruzynski A, Kuhn AN, Buck J, Heesch S, Schreeb KH, Müller F, Ortseifer I, Vogler I, Godehardt E, Attig S, Rae R, Breitkreuz A, Tolliver C, Suchan M, Martic G, Hohberger A, Sorn P, Diekmann J, Ciesla J, Waksman O, Brück AK, Witt M, Zillgen M, Rothermel A, Kasemann B, Langer D, Bolte S, Diken M, Kreiter S, Nemecek R, Gebhardt C, Grabbe S, Höller C, Utikal J, Huber C, Loquai C, Türeci O (2017) Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer. *Nature* 547:222–226
 27. Schuster H, Peper JK, Bösmüller HC, Röhle K, Backert L, Bilich T, Ney B, Löffler MW, Kowalewski DJ, Trautwein N, Rabsteyn A, Engler T, Braun S, Haen SP, Walz JS, Schmid-Horch B, Brucker SY, Wallwiener D, Kohlbacher O, Fend F, Rammensee HG, Stevanović S, Staebler A, Wagner P (2017) The immunopeptidomic landscape of ovarian carcinomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114:E9942–E9951
 28. Shima H, Tsurita G, Wada S, Hirohashi Y, Yasui H, Hayashi H, Miyakoshi T, Watanabe K, Murai A, Asanuma H, Tokita S, Kubo T, Nakatsugawa M, Kanaseki T, Tsukahara T, Nakae Y, Sugita O, Ito YM, Ota Y, Kimura Y, Kutomi G, Hirata K, Mizuguchi T, Imai K, Takemasa I, Sato N, Torigoe T (2019) Randomized phase II trial of survivin 2B peptide vaccination for patients with HLA-A24-positive pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Sci* 110:2378–2385
 29. Walter S, Weinschenk T, Stenzl A, Zdrojowy R, Pluzanska A, Szczylik C, Staehler M, Brugger W, Dietrich PY, Mendrzyk R, Hilf N, Schoor O, Fritsche J, Mahr A, Maurer D, Vass V, Trautwein C, Lewandowski P, Flohr C, Pohla H, Stanczak JJ, Bronte V, Mandruzzato S, Biedermann T, Pawelec G, Derhovanessian E, Yamagishi H, Miki T, Hongo F, Takaha N, Hirakawa K, Tanaka H, Stevanovic S, Frisch J, Mayer-Mokler A, Kirner A, Rammensee HG, Reinhardt C, Singh-Jasuja H (2012) Multi-peptide immune response to cancer vaccine IMA901 after single-dose cyclophosphamide associates with longer patient survival. *Nat Med* 18:1254–1261
 30. Yoshimura K, Minami T, Nozawa M, Kimura T, Egawa S, Fujimoto H, Yamada A, Itoh K, Uemura H (2016) A phase 2 randomized controlled trial of personalized peptide vaccine immunotherapy with low-dose dexamethasone versus dexamethasone alone in chemotherapy-naïve castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol* 70:35–41

Sicherheit bei der Einnahme von immunsupprimierenden Medikamenten

Studie zu COVID-19 bei Rheuma

Wissenschaftler sind der Frage nachgegangen, inwieweit die unterschiedlichen Medikamentengruppen die Wahrscheinlichkeit für einen Krankenhausaufenthalt bei Rheumakranken mit einer COVID-19-Infektion erhöhen.

Hierfür wurde eine Fallserie von Personen mit rheumatischen Erkrankungen und COVID-19 aus dem „EULAR and Global Rheumatology Alliance COVID-19“-Register analysiert. Insgesamt gingen 600 Fälle aus 40 Ländern in die Studie ein. Die Forscher analysierten Alter, Geschlecht, Raucherstatus, Diagnose rheumatischer Erkrankungen, Komorbiditäten und Medikamente gegen rheumatische Erkrankungen, die unmittelbar vor der Infektion eingenommen wurden.

Die Einnahme konventioneller krankheitsmodifizierender Antirheumatika (csDMARDs) - wie Anti-Malaria-Mittel oder Medikamente aus der Krebstherapie - allein oder in Kombination mit Biologika oder die Einnahme von nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR) war nicht mit einem Krankenhausaufenthalt assoziiert. Die Einnahme von TNF-alpha-Hemmern war mit einer verringerten Wahrscheinlichkeit eines Krankenhausaufenthalts verbunden, während kein Zusammenhang mit der Einnahme von Malaria-Mitteln beobachtet wurde. Eine Behandlung mit mehr als 10 mg Prednison pro Tag – das entspricht einer mäßigen bis hohen Kortisondosis – war mit einer höheren Wahrscheinlichkeit eines Klinikaufenthalts verbunden. Prednison ist ein Glukokortikoid, das in der Rheumatologie häufig als schnell wirksamer Entzündungshemmer eingesetzt wird.

Gianfrancesco M., Hyrich KL., Al-Adely S. et al. *Ann Rheum Dis* 2020. [epub ahead of print.] doi:10.1136/annrheumdis-2020-217871.

EULAR

Hier steht eine Anzeige.

