

Eisenberger-Stipendiat 2024, Fördernummer: SeK1/FE-24

Heimatklinik:

Klinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinik Münster

Betreuer und Gastlabor:

Dr. med. Philipp Backhaus und Prof. Dr. med. Michael Schäfers, European Institute for Molecular Imaging (EIMI), Universität Münster

Projekt:

Evaluation der Wirksamkeit und zugrundeliegenden Immunzellinfiltration der Kombination von PSMA-Radioligandentherapie und des Immuntherapeutikums L19-IL2 im Prostatakarzinom

Projektzusammenfassung:

Das Prostatakarzinom ist bekannt für seine immunologische "Kälte", was bedeutet, dass es nur eine geringe Anzahl von Immunzellen, wie zum Beispiel natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) und CD8+ T-Zellen in der Tumormikroumgebung aufweist. Diese Eigenschaft wird unter anderem auf die niedrige Mutationlast des Tumors zurückgeführt, die zu wenigen Neoantigenen führt. Neoantigene werden vom Immunsystem als fremd erkannt und können so eine Immunantwort auslösen. Daher wird vermutet dass Immuncheckpoint-Inhibitoren, die bei anderen Krebsarten etabliert sind, nur begrenzte Wirksamkeit zeigen.

Durch Strahlen- oder Radioligandentherapie kann ein immunogener Zelltod induziert werden, was zu einer verstärkten Bildung von Neoantigenen und einer verbesserten Infiltration von Immunzellen führen kann. Diese Infiltration kann das Prostatakarzinom "erwärmen" und die Wirksamkeit immunonkologischer Therapien steigern. Interleukin-2 (IL-2) spielt hierbei eine zentrale Rolle, da es sowohl zytotoxische CD8+ T-Zellen als auch NK-Zellen aktivieren und deren Proliferation anregen kann.

L19-IL2 ist ein neues Immuntherapeutikum, das Interleukin-2 mit dem Antikörper-Fragment L19 verbindet. L19 zielt auf die Angiogenese-assoziierte Extradomäne B des Proteins Fibronektin (EDB-FN), das im Stroma von Tumoren überexprimiert wird, sowie auch bei Prostatakarzinomen. Durch die gezielte Anreicherung von L19-IL2 im Tumorstroma wird eine hohe lokale Konzentration von IL-2 erreicht und somit in der Theorie auch von NK und T-Zellen.

L19-IL2 wurde bereits in verschiedenen klinischen Studien bei nicht-prostatistischen Tumoren getestet, wobei besonders die Kombination mit Strahlen- oder Radioligandentherapie vielversprechende Ergebnisse zeigten. Diese Kombinationen verstärken das immunologische Priming und wirkten als "Radiosensitizer".

Die gegen das Prostataspezifische Membranantigen (PSMA) gerichtete Radioligandentherapie, insbesondere mit ¹⁷⁷Lutetium-PSMA-617 (Pluvicto), hat sich in den letzten Jahren beim metastasierten Prostatakarzinom etabliert. Studien wie der VISION Trial haben die Wirksamkeit dieser Therapie bestätigt. Derzeit werden

verschiedene Kombinationen von PSMA-Radioligandentherapie und Immuntherapie klinisch untersucht.

Eine kürzlich veröffentlichte Studie aus dem European Institute for Molecular Imaging (EIMI) der Universität Münster zeigte die Wirksamkeit der Kombination von L19-IL2 mit einer gegen das Fibroblasten-Aktivierungsprotein (FAP) gerichteten Radioligandentherapie im Brustkrebs-Mausmodell. Die Kombination führte zu einer kompletten Remission und einer erhöhten Infiltration von NK-Zellen im Tumorgewebe. Wohingegen FAP gerichtete Radioligandentherapien noch in der klinischen Erprobung sind, ist ¹⁷⁷Lu-PSMA bereits zugelassen. Es besteht daher eine starke Rationale für die Untersuchung eines synergistischen Effekts der Kombination von ¹⁷⁷Lu-PSMA und L19-IL2 beim Prostatakarzinom.

Projektziele und Arbeitsprogramm

Ziele

1. Evaluation der Wirksamkeit und des synergistischen Effekts der Kombinationstherapie von L19-IL2 und ¹⁷⁷Lu-PSMA.
2. Untersuchung der Immunzellinfiltration und molekularen Veränderungen in der Tumormikroumgebung nach der Kombinationstherapie.

Das hier beschriebene Projekt ist in drei Teilprojekte unterteilt:

Teilprojekt 1: Vergleichende Analyse potenzieller Tumormodelle

Drei potenzielle Tumormodelle werden verglichen:

1. **RM1-PGLS**: Häufig in PSMA-Therapiestudien verwendet, jedoch mit atypischen Mutationsmustern.
2. **DVL3**: Kürzlich entwickelte Prostatakarzinomlinie mit Ähnlichkeiten zum menschlichen kastrationsresistenten Prostatakarzinom.
3. **MC38-hPSMA**: Syngene Adenokarzinom-Linie mit stabiler PSMA-Expression und EDB-FN im Stroma.

Die Modelle werden hinsichtlich ihrer Eignung für die Studienziele analysiert (qPCR, IHC, Durchflusszytometrie), einschließlich der Expressionsmuster (z.B. Androgen Rezeptor, PSA, Zytokeratin, PSMA, EDB-FN) und zellulären Zusammensetzung (z.B. CD8a, CD4, CD68, NK-Zellen) der Tumormikroumgebung.

Teilprojekt 2: Therapieversuche – Radioliganden-Dosis und Wirksamkeit

Es werden vier Gruppen von Mäusen gebildet, die nach Tumorimplantation verschiedene Therapien erhalten. Die Gruppen umfassen:

1. ¹⁷⁷Lu-PSMA + L19-IL2
2. ¹⁷⁷Lu-PSMA + Kochsalzlösung
3. Kochsalzlösung + L19-IL2
4. Kochsalzlösung + Kochsalzlösung

Der primäre Endpunkt ist die Zeit bis zum Erreichen eines Abbruchkriteriums, basierend auf dem Tumorwachstum.

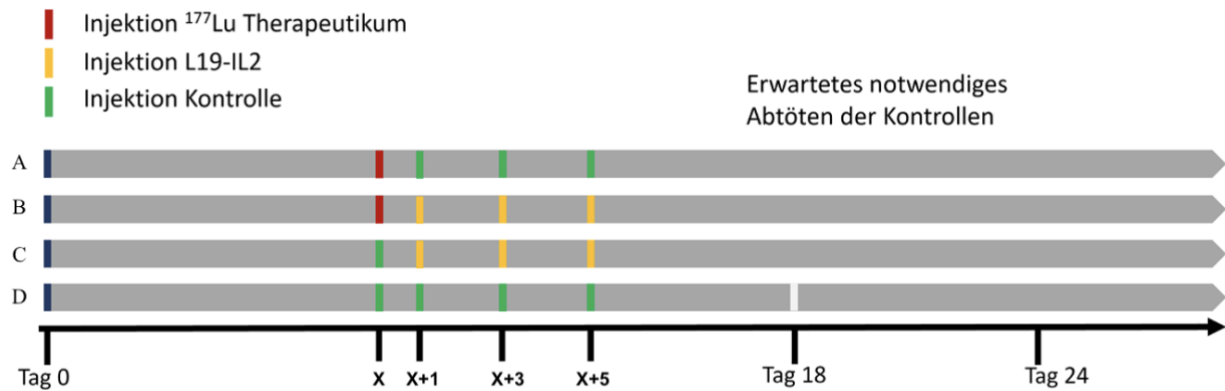


Abbildung 1 Ablauf Teilprojekt 2

Teilprojekt 3: Multimodale funktionelle und molekulare Charakterisierung zur Ermittlung der Immunzellinfiltration und molekularen Grundlagen potentieller Synergismen

Drei Mäuse pro Therapiegruppe werden longitudinal mittels PET/MRT untersucht und anschließend ex vivo analysiert. Die PET/MRT-Untersuchung umfasst:

1. Dynamisches F-18-PSMA-1007 PET zur Quantifizierung vitaler Tumorzellen.
2. Dynamic contrast-enhanced Perfusions-MRT zur Quantifizierung von Tumorblutvolumen, -fluss und -permeabilität.
3. Anatomische 3D-T1 und -T2 MRT zur Bestimmung des Tumolvolumens.
4. Oscillating-gradient diffusion-weighted MRT zur Ermittlung des mittleren Zelldurchmessers in der Tumormikroumgebung.

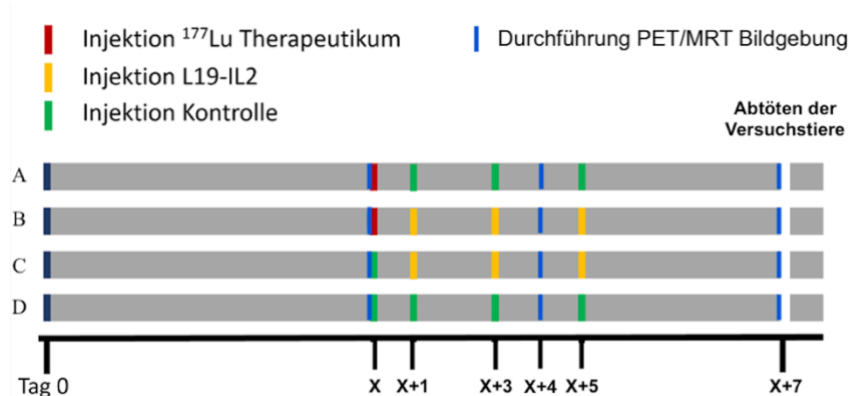


Abbildung 2 Ablauf Teilprojekt 3

Für die Ex-Vivo-Analyse werden die Tiere am 7. Tag nach Einleitung der Therapie getötet und die Tumore entnommen. Die Tumore werden untersucht mittels Immunhistochemie und Durchflusszytometrie zur Analyse der Tumormikroumgebung, mittels Single-Cell RNA-Sequencing zur Untersuchung der zellulären Gen-Expression und mittels Massenspektrometrie-basierter Proteomics zur Analyse der Protein-Expression. Ziel ist es, die Heterogenität der Tumorzellen und der Tumormikroumgebung zu erforschen und den Einfluss verschiedener Therapien zu verstehen.

Erwartete klinische Relevanz und Ausblick

1. Wirksamkeit der Kombinationstherapie: Die Ergebnisse könnten wegweisend für klinische Studien beim Prostatakarzinom sein und die Grundlage für weitere präklinische immuntherapeutische Versuche liefern.
2. Immunzellinfiltration und molekulare Veränderungen beim Prostatakarzinom: Die Ergebnisse könnten Hinweise geben wieso Immuntherapien bisher wenig Relevanz beim Prostatakarzinom haben und Thesen generieren, wie diese Probleme überwunden werden können.