

Berichte aus der Biologie

Thomas Wüest

**"Fibroblast activation protein"
spezifische rekombinante Antikörperderivate
zur Tumordetektion und Therapie**

D 93 (Diss. Universität Stuttgart)

Shaker Verlag
Aachen 2001

Die Deutsche Bibliothek - CIP-Einheitsaufnahme

Wüest, Thomas:

"Fibroblast activation protein" spezifische rekombinante Antikörperderivate zur Tumordetektion und Therapie/Thomas Wüest.

Aachen : Shaker, 2001

(Berichte aus der Biologie)

Zugl.: Stuttgart, Univ., Diss., 2001

ISBN3-8265-9580-7

Copyright Shaker Verlag 2001

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 3-8265-9580-7

ISSN 0945-0688

Shaker Verlag GmbH • Postfach 1290 • 52013 Aachen

Telefon: 02407/95 96 - 0 • Telefax: 02407/95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • eMail: info@shaker.de

Zusammenfassung (Wüest; ISBN 3-8265-9580-7)

Die bisher entwickelten Immuntherapeutika nutzen fast ausschliesslich von den Tumorzellen selbst exprimierte Antigene als Zielstruktur. Die Expression dieser Antigene ist jedoch oft sehr heterogen und kann selbst bei den Tumorzellen eines Patient stark variieren. Das Tumorstroma hingegen ist weit weniger heterogen und daher die vom Tumorstroma exprimierten Antigene für eine immuntherapeutische Behandlung besser geeignet. Da es bisher kaum Untersuchungen mit Immuntherapeutika gegen solche Antigene gibt, sollten in dieser Arbeit Tumorstroma-spezifische Immuntherapeutika konstruiert werden, anhand derer die Wirksamkeit von Stroma spezifischen Tumortherapien getestet werden kann. Als Zielstruktur wurde das 'fibroblast activation protein' (FAP) verwendet, welches auf reaktiven stromalen Fibroblasten der meisten epithelialen Tumoren exprimiert wird.

Der zur Tumordetektion konstruierte Minibody ist ein Homodimer bestehend aus einem FAP spezifischen single-chain Fv (scFv) und der CH3-Domäne von humanem IgG1. Er zeigte im Vergleich zum scFv eine höhere Affinität, Stabilität und bei der immunhistologischen Färbung von Tumorschnitten ein äquivalentes Färbungsmuster.

Als bereits im experimentellen Massstab etabliertes Immuntherapeutikum wurde ein bispezifischer scFv (bscFv), spezifisch für FAP und CD3 Untereinheit des T-Zellrezeptors, zur Aktivierung von zytotoxischen T-Zellen konstruiert. Es konnte gezeigt werden, dass der bscFv spezifisch an zelluläres FAP und CD3 bindet und dass er *in vitro* periphere Blutlymphozyten zur Lyse von FAP exprimierenden Zielzellen aktiviert.

Als drittes wurde ein neuartiges TNF-Prodrug System etabliert. Das Fusionsprotein besteht aus einem FAP spezifischen scFv, einer Trimerisierungsdomäne, TNF, einem Protease-sensitiver Linker und einem Fragment des TNF-Rezeptors 1. Es konnte gezeigt werden, dass diese Prodrug als kovalent verknüpftes Homotrimer exprimiert wird und eine dem Minibody ähnlichen Affinität zu FAP aufweist. Die TNF-spezifische Aktivität der Prodrug war im Vergleich zu TNF 10000fach vermindert, konnte jedoch durch proteolytische Spaltung 1000fach gesteigert werden, wobei eine Aktivierung auch im Antigen-gebundenem Zustand gezeigt werden konnte. Mit 'tissue-type plasminogen activator', einer in Tumoren oft verstärkt exprimierten Protease, konnte das TNF Rezeptor-Fragment spezifisch abgespalten werden, wodurch eine 500fache Aktivierung der Prodrug erreicht wurde.