Kurzbericht zum Projekt
CONAN – Ein CAR T-Zell-Chemokin-Checkpoint-Beschleuniger für die Behandlung von soliden Tumorerkrankungen – Teilprojekt C

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 03GW0329 gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Zuwendungsempfänger: CheckImmune GmbH, BerlinBioCube (Haus D95), Robert-Rössle Str. 10, 13125 Berlin
Teilvorhabenbezeichnung: Ein Chemokin-Checkpoint-Beschleuniger für die Behandlung von soliden Tumorerkrankungen - Ein CAR T-Zell-Chemokin-Checkpoint-Beschleuniger (CONAN) – Evaluierung von CONAN T-Zellen und Behandlungsstratifizierung.
Akronym: CONAN
Förderkennzeichen: 03GW0329
Laufzeit des Vorhabens: 03/2021 – 12/2024 (nach kostenneutraler Verlängerung um 9 Monate)

Die zelluläre Immuntherapie mit CAR-T-Zellen stellt eine vielversprechende Behandlungsoption für bestimmte hämatologische Erkrankungen dar, bleibt jedoch bei soliden Tumoren bislang hinter den Erwartungen zurück. Ursachen sind unter anderem die ineffiziente Infiltration der T-Zellen in das Tumorgewebe sowie deren funktionelle Erschöpfung im immunsuppressiven Mikromilieu. Ziel des vom BMBF geförderten Verbundprojekts CONAN war es daher, neue Strategien zur gezielten Steuerung von Migration und Funktion von CAR-T-Zellen zu entwickeln. Der Fokus lag auf der Modulation der CXCR3/CXCL11-Chemokinachse, insbesondere durch gezielte Expression funktioneller CXCR3-Isoformen wie CXCR3altX3 in genetisch modifizierten T-Zellen.

Die CheckImmune GmbH übernahm innerhalb des CONAN-Konsortiums zentrale Aufgaben in der Bewertung immunologischer Risiken (WP3) sowie in der Entwicklung molekularer Werkzeuge zur funktionellen Charakterisierung und Stratifizierung CONAN-modifizierter Zellprodukte (WP5). Im Zentrum standen dabei zwei eng miteinander verbundene Zielsetzungen: Erstens, die Erfassung präexistenter oder therapieassoziierter Immunantworten gegen das im Projekt verwendete Cas9-Protein und zweitens die Entwicklung eines diagnostischen Plattformansatzes zur Korrelation von CXCR3-Isoformprofilen in Zellprodukten mit der Ligandenexpression im Tumorgewebe. Zur Bewertung immunologischer Risiken wurde ein Immunmonitoring-Assay auf Basis multiparametrischer Durchflusszytometrie etabliert, der funktionelle $CD4^+$-, $CD8^+$- und Treg-Antworten auf Cas9-Protein und -Peptidpools detektiert. In einem Spender:innenkollektiv zeigte sich, dass Cas9-spezifische Reaktivität bei der Mehrheit der getesteten Personen nachweisbar war – insbesondere auf Ebene der $CD8^+$-T-Zellen. Ergänzend

konnte gezeigt werden, dass das Cas9-Protein in transfizierten Zellen nur transient exprimiert wird, was ein zentrales Kriterium zur Minimierung unerwünschter Immunreaktionen darstellt.

Im Rahmen von WP5 entwickelte CheckImmune sensitive, isoformspezifische PCR- und ddPCR-Methoden zur Bestimmung der CXCR3-Transkripte (CXCR3A, -B, alt) in CAR-T-Zellprodukten. Parallel wurden Luminex-basierte Assays zur Analyse der intratumoralen Chemokin-Liganden (CXCL9, -10, -11) etabliert und auf klinisches Probenmaterial angewendet. Die gewonnenen Daten flossen in die Entwicklung eines stratifizierenden Modells ein, das molekulare Merkmale des Zellprodukts mit dem Chemokinprofil des Tumors verknüpft und damit eine Basis für patientenspezifische Diagnostik in künftigen Zelltherapieansätzen bildet.

Die von CheckImmune entwickelten Analyseplattformen tragen wesentlich zur Qualitätssicherung, Risikoabschätzung und gezielten Weiterentwicklung chemokinmodulierter Zellprodukte bei. Sie wurden bereits in laufende Kooperationsprojekte eingebracht und bilden eine übertragbare Grundlage für begleitende Diagnostik- und Sicherheitsbewertungen in der präklinischen Entwicklung innovativer Zelltherapien.