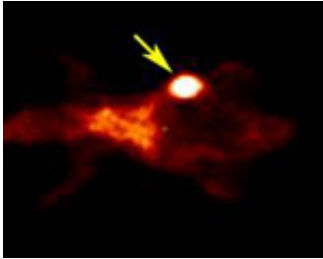


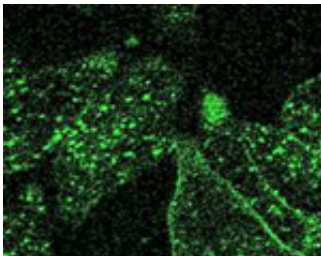
Laufende Forschungsprojekte zum Prostatakarzinom



Imaging des Prostatakarzinoms mit Hilfe von anti-PSMA Antikörpern und Antikörperfragmenten

Das prostataspezifische Membranantigen (PSMA) stellt ein ausgezeichnetes Zielantigen zur Diagnostik des Prostatakarzinoms dar. Es wird in allen Stadien des Tumors an der Zelloberfläche von Prostata-Epithelzellen exprimiert und ist beim hormonunabhängigen und metastasierten Karzinom hochreguliert. In unserer Arbeitsgruppe konnten drei monoklonale Antikörper (3/A12, 3/E7, 3/F11) hergestellt werden, die eine starke und spezifische Bindung an zellständiges PSMA aufweisen. Ebenso konnten daraus Antikörperfragmente verschiedener Größen generiert werden, die die Bindungseigenschaften der Parental-Antikörper beibehalten haben.

Im ersten Teil dieses Projektes wird nach radioaktiver Markierung dieser Antikörper oder Antikörperfragmente das Imaging von humanen Prostatatumoren im SCID-Maus-Xenograft-Modell mittels Positronen-Emissions-Tomographie (PET) etabliert. Der zweite Teil des Projektes beinhaltet die Kopplung von eisenhaltigen Nanopartikeln an die Antikörper oder Antikörperfragmente. Anschließend wird ein Imaging mit Hilfe der Magnetresonanztomographie (MRT) durchgeführt.



Präklinische Evaluierung von rekombinanten Immuntoxinen zur Therapie des Prostatakarzinoms

Auch für die selektive Therapie des Prostatakarzinoms bietet sich das prostataspezifische Membranantigen (PSMA) als Target an. Aus den monoklonalen Antikörpern 3/A12, und 3/E7 wurden die beiden „single chain“ Antikörper-Fragmente A5 und D7 hergestellt, die sowohl eine hohe Zellbindung als auch eine Internalisierung in PSMA-exprimierende Prostatazellen zeigen.

Mit diesen beiden scFv und einer verkürzten Form von Pseudomonas Exotoxin A (PE40) wurden rekombinante Immuntoxine konstruiert. Diese zeigten sowohl eine spezifische Bindung an Zellen der PSMA-exprimierenden Prostatakarzinom-Linien LNCaP und C4-2, als auch eine hohe und spezifische Toxizität im picomolaren Konzentrationsbereich. Im SCID-Maus Xenograft-Modell konnte nach Applikation der Immuntoxine eine signifikante Hemmung des Wachstums von humanen Prostatakarzinomen hervorgerufen werden.

Derzeit wird die präklinische Entwicklung der Immuntoxine weitergeführt. Dabei soll einerseits eine Reduktion der Immunogenität durch Humanisierung der framework-Bereiche herbeigeführt, andererseits Expression und Reinheit verbessert werden.



Rekombinante bispezifische Antikörper gegen PSMA/CD3 zur Therapie des Prostatakarzinoms

Im Rahmen dieses Projekts soll durch „Retargeting“ von Lymphozyten mit Hilfe des bispezifischen PSMAxCD3 Diabody eine Immuntherapie für das Prostatakarzinom etabliert werden. Der Diabody wird sowohl bicistronisch, als auch in sc- und bsc-Formaten konstruiert und getestet.

Durch Co-Inkubation von PSMA-positiven Prostatakarzinom-Zellen (LNCaP, C4-2) mit Diabody und Lymphozyten konnte eine konzentrations- und zeitabhängige Lyse der Krebszellen festgestellt werden. Diese Reaktion zeigte sich gleichermaßen mit CD3+, CD4+ und CD8+ Lymphozyten. Parallel zur Tumorzell-Lyse erfolgte eine Aktivierung der Lymphozyten, was sich in einer erhöhten Proliferation, einer gesteigerten Expression der Aktivierungsmarker CD25 und CD69 und der Sekretion von Zytokinen manifestierte. Ein erster Therapieversuch im SCID-Maus-Modell mit humanen Prostatatumoren führte zu einer deutlichen Hemmung des Tumorwachstums nach Applikation von Diabody und Lymphozyten im Vergleich zu den Kontrollen.

Derzeit wird die präklinische Entwicklung des PSMAxCD3 Diabody weitergeführt. Dabei soll einerseits eine Reduktion der Immunogenität durch Humanisierung erreicht und andererseits Expression und Reinigung verbessert werden. Außerdem sollen die Tierversuche auf unterschiedlichen „Tumorload“ und bessere immunologische Bedingungen erweitert werden.



Identifizierung von Androgen-regulierten Genen als Aggressionsmarker für das Prostatakarzinom

Der Androgen-Entzug ist eine Standard-Therapie für Patienten mit fortgeschrittenem Prostatakarzinom. Dabei kommt es jedoch nach einem kurzfristigen klinischen Erfolg oft zu einer Progression, wobei hormonunabhängige und besonders aggressiv wachsende Tumoren entstehen, die praktisch nicht mehr therapierbar sind. Damit bietet die Hormonentzugs-Situation eine Möglichkeit Gene zu identifizieren, die für das aggressive Wachstum verantwortlich sein könnten.

An der Prostatakarzinomlinie LNCaP wurde in vitro ein Hormonentzug mit dem Androgenrezeptor-blockierenden Wirkstoff Bicalutamid bzw. den alpha-Reduktasehemmern MK906 und MK386 durchgeführt. Anschließend erfolgte eine globale Transkriptionsanalyse mittels „Array“-Technologie. Dabei wurden verschiedene Gene gefunden, die unter beiden Bedingungen reguliert waren. Sie konnten anschließend durch quantitative PCR verifiziert werden.

Im nächsten Schritt soll nun der Nachweis dieser Gene in frischem Tumorgewebe von unbehandelten und durch Androgenentzug behandelten Patienten erfolgen. Damit soll ein Zusammenhang zwischen der Genexpression und der Hormonentzugsbehandlung gesucht und regulierte Gene als mögliche Aggressionsmarker identifiziert werden.