



Gezielter Wirkstofftransport ins Tumorgewebe durch Antikörper

# Ein **Fall** für **zwei**

*Im Kampf gegen Krebs setzen Mediziner unter anderem auf die Chemotherapie. Doch die Substanzen greifen auch gesundes Gewebe an und belasten Patienten zum Teil sehr stark. Forscher von Bayer HealthCare arbeiten mit einem neuen Therapieansatz, mit dem sie Wirkstoffe zielgenau in die Krebszelle transportieren. Ein sogenanntes Immunokonjugat oder auch Antibody-drug conjugate, mit der Bezeichnung CA9-ADC, wird zurzeit in klinischen Phase-I-Studien erstmals verabreicht.*

Tatort Tumor: Warum das Gewebe plötzlich außer Kontrolle gerät, bleibt Ärzten oft verborgen. Nur so viel ist klar: Das Erbgut ist bei Krebspatienten an mehreren Stellen so einschneidend verändert, dass die Zellen nicht mehr ihre ursprüngliche Funktion erfüllen und aus der Art schlagen. Sie fordern Platz, wo keiner ist, oder wandern durch den menschlichen Körper und nisten sich in Organen oder Knochen als Metastasen ein. Dort lauern sie zunächst oft unentdeckt im Hintergrund, stören den Ablauf im menschlichen Organismus – und können zur tödlichen Gefahr werden. Je schneller sie aufgespürt und vernichtet werden, desto größer die Chance auf Heilung.

Das entartete Gewebe lässt sich aber nicht immer durch eine Operation entfernen. Deshalb setzen Mediziner auch auf Bestrahlung (siehe auch „Alphastrahler gegen Tumore“, Seite 10) oder rücken Tumoren mit einem breiten Spektrum an Zellgiften zu Leibe. Das Problem: Solche Chemotherapien

wirken oft wie ein Schlag mit der Keule. Sie treffen nicht nur die kranken, sondern auch gesunde Zellen. Die Folgen sind Nebenwirkungen wie Haarausfall, Erbrechen und Übelkeit sowie ein geschwächtes Immunsystem. Patienten können die Substanzen daher meist nur in sehr geringen Dosierungen erhalten. Diese reichen im Kampf gegen den Tumor aber teilweise nicht aus.

### **Tumormarker: Zielkennzeichen für Y-Moleküle und Zellgift**

Mediziner suchen deshalb neue Wege, um Krebsmedikamente noch zielgenauer zum Einsatzort zu bringen.

Als vielversprechendes Hilfsmittel haben sich sogenannte Antikörper erwiesen: Diese Y-förmigen Eiweißmoleküle binden mit ihren Ärmchen nur an ganz spezifische Strukturen – zum Beispiel auch an die Oberflächenmoleküle, die Tumorzellen von gesunden Körperzellen unterscheiden: die soge-

nannten Tumormarker. Für sich alleine wirken die Antikörper nur unter geeigneten Umständen gegen die entarteten Zellen. Erst in Kombination mit einem hochwirksamen Zellgift entsteht eine schlagkräftige Mischung im Kampf gegen Krebs: „Ein Antikörper spürt die Krebszellen detektivisch auf und bringt so ein Zellgift direkt an den gewünschten Wirkort im Inneren der Tumorzelle“, erklärt Dr. Hans-Georg Lerchen, Forscher in der Medizinischen Chemie bei Bayer HealthCare in Wuppertal. Weil Antikörper auch einen wichtigen Teil des Immunsystems darstellen, heißt das Molekül mit dem gekoppelten Wirkstoff Immunokonjugat oder auch „antibody-drug-conjugate“ – kurz ADC.

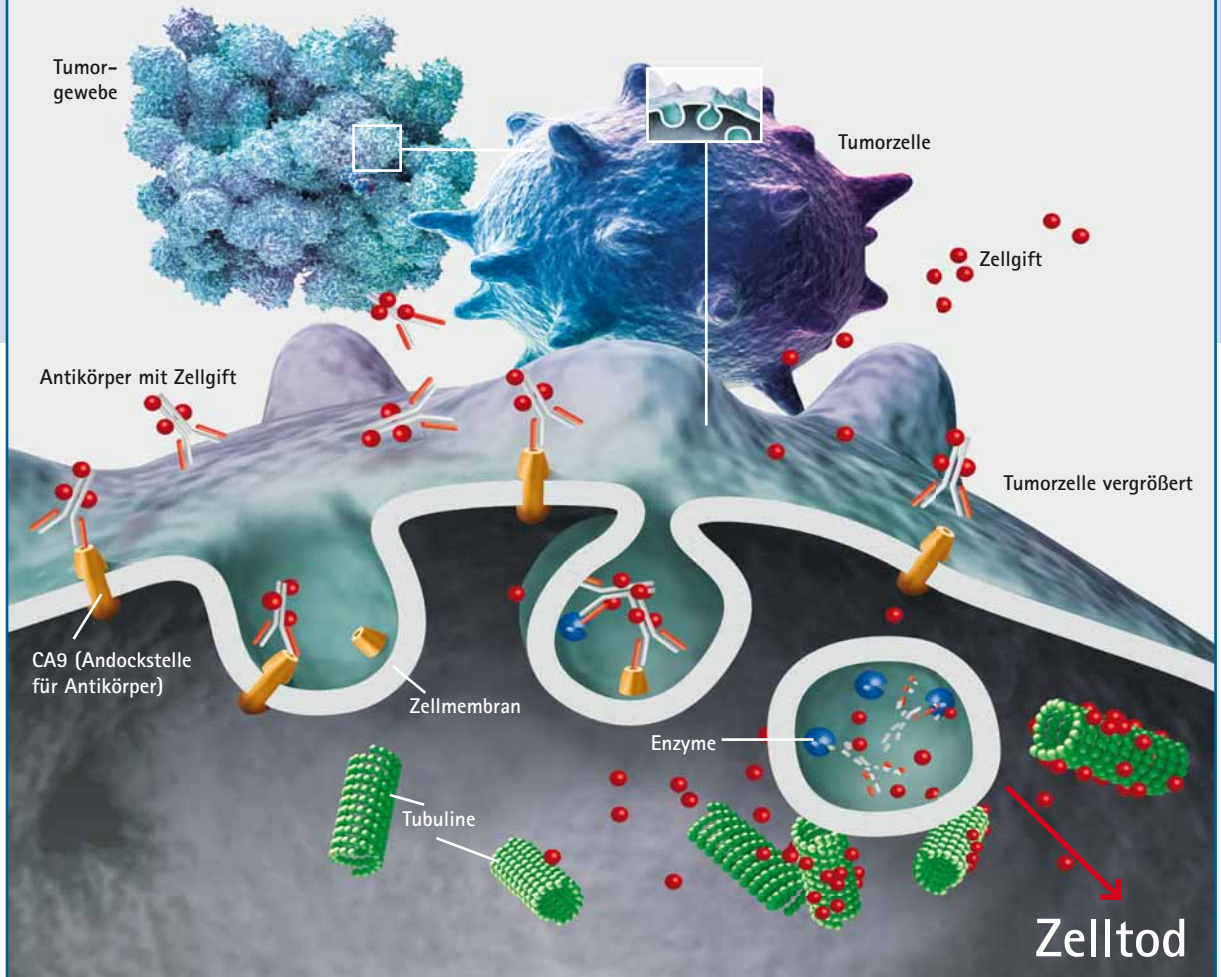
Für ein aktuelles Forschungsprojekt setzen die Forscher bei Bayer HealthCare auf das Zellgift Monomethylauristatin E – kurz MMAE, das von dem US-amerikanischen Unternehmen Seattle Genetics unter Lizenz genutzt wird. Seattle Genetics ist als Kooperationspartner von

Kampf gegen Krebs: Bayer HealthCare sucht ständig nach neuen Wegen, mit Medikamenten noch zielgenauer gegen Krebszellen (Foto li.) vorgehen zu können. Die beiden Forscher Dr. Berthold Boedeker und Dr. Hans-Georg Lerchen (Foto re., v. li.) arbeiten an einer Lösung mit Antikörpern, die einen Wirkstoff direkt in die Krebszelle transportieren und so den Tumor ganz gezielt bekämpfen können.



# Das Trojanische Pferd in der Zelle

Die Y-förmigen Antikörper mit dem gekoppelten Zellgift binden an den Tumormarker (CA9) auf der Oberfläche der Krebszelle. Die Zellmembran stülpt sich ein und schleust Antikörper und Zellgift nach innen. Dort spaltet ein spezifisches Enzym die Verbindung (Linker) zwischen Antikörper und Zellgift und setzt so den Wirkstoff frei. Das Zellgift heftet sich an die sogenannten Tubuline (Eiweißmoleküle), blockiert diese und behindert so die Zellteilung. Das treibt die Krebszelle in den Selbstmord. Durch die Membran kann das Zellgift auch in benachbarte Tumorzellen wandern und dort ebenfalls seine Wirkung tun.



Bayer HealthCare an dem Projekt beteiligt. MMAE ist eine chemische Substanz, die in den Krebszellen ein höchst effektives Selbstmordprogramm auslöst. „In einer Zellkultur wirkt das Gift bereits nach zwei Stunden tödlich auf die Zellen“, schildert Lerchen die Beobachtungen der Forscher. Derart effektive Zellgifte können im Kampf gegen Tumore weiterhelfen, vorausgesetzt, sie greifen nur die entarteten Zellen an. Aber die Zellgifte per se sind blind und können nicht zwischen Gut und Böse unterscheiden. Deshalb muss das MMAE direkt zum eigentlichen Wirkort gebracht werden, ansonsten wäre es zu aggressiv für den Patienten. Durch die

Koppelung der chemischen Substanz an die Antikörper haben die Bayer-Forscher aber jetzt ein perfektes Duo für eine mögliche Therapie entworfen: „Wir geben unseren Patienten also eine Vorstufe des eigentlichen Medikaments. Denn das Zellgift wirkt ja erst, wenn es in der Krebszelle angekommen ist“, sagt Dr. Bernhard Fritz-Zieroth, Global Project Leader bei Bayer HealthCare.

## Wirkstoff blockiert Tubuline: Tumor-Zellteilung gestoppt

MMAE wirkt gegen solche Zellen, die gerade dabei sind, sich zu teilen. „Die

hohe Teilungsaktivität ist eine entscheidende Eigenschaft von Tumorzellen, an der auch die Wirkung zahlreicher anderer Zellgifte ansetzt“, sagt Dr. Berthold Boedeker von der Biotechnologischen Entwicklung bei Bayer HealthCare in Wuppertal. Der Biochemiker arbeitet eng mit Lerchen zusammen. Mit speziellen Fluoreszenz-Farbstoff-Markierungen konnten die Bayer-Forscher nachweisen, dass das Zellgift mithilfe des Antikörpers auch wirklich in die Zellen gelangt. Dort heftet es sich an Moleküle mit dem Namen Tubulin, die für die Zellteilung sehr wichtig sind. Sind die Tubuline blockiert, kann sich die Tumorzelle nicht mehr teilen. Wenn bestimmte Moleküle



Krebsmedizin: Dr. Bodo Brocks (Foto li.) kontrolliert den Fermentationsprozess zur Produktion rekombinanter Antikörperfragmente in den Laboren der Biotech-Firma MorphoSys. Das dann fertige sogenannte Immunokonjugat soll Tumorgewebe im Körper zerstören und beispielsweise bei Patienten mit Lungenkrebs (Foto re.) helfen.

im Zellinneren diesen Fehler registrieren, aktivieren sie das entscheidende Selbstmordprogramm: Die Zellen schrumpfen und zerstückeln sich in viele Einzelbestandteile, die schließlich von körpereigenen Fresszellen vernichtet werden.

Die neu entwickelte Form des Wirkstofftransports ist hochspezifisch, denn: „Das Prinzip wirkt nur dann, wenn der Antikörper sein Ziel auf der Krebszelle erreicht und auch tatsächlich daran bindet“, so Lerchen. Und dabei ist die richtige Auswahl der passenden Angriffspunkte entscheidend. Denn je spezifischer das Target, wie das Zielmolekül auch bezeichnet wird, desto besser die Therapie-Chancen.

### CA9: Die Eingangstür zum Inneren der Krebszelle

Die Targets werden im Laufe der Medikamentenentwicklung auf unterschiedliche Kriterien getestet: „Sie sollten nicht auf gesunden, sondern möglichst nur auf Tumorzellen vorhanden sein – und dann die gebundenen Antikörper samt ihrer Fracht ins Innere der Zellen befördern“, erklärt Boedeker.

Als Andockstellen für die Antikörper dienen Moleküle, die sich vorwiegend auf der Oberfläche von Tumoren befinden. In diesem Falle die sogenannte Carboanhydrase 9 (CA9). Dieses Molekül ist die Tür zum Innern der Krebszelle: „Es wird regelmäßig endozytiert – also von der Zelloberfläche ins Zellinnere

transportiert und dann wieder zurück an die Zelloberfläche geschafft“, erklärt Lerchen. Die eigentliche Funktion der Carboanhydrase 9 ist bisher noch nicht vollständig geklärt. Aber das Eiweißmolekül scheint vor allem dann in der Außenmembran der Zellen vermehrt aufzutreten, wenn das Gewebe unzureichend mit Blut und damit Sauerstoff versorgt ist. Und das ist in schnell wachsenden Tumoren oft der Fall.

Je mehr von dieser Substanz ein Tumor auf seiner Zelloberfläche zur Schau trägt, desto bösartiger scheint er zu sein – und desto schlechter sind die Überlebenschancen für die Patienten. Die Forscher haben das Molekül gleich auf unterschiedlichen Tumorarten gefunden. Deshalb wäre es prinzipiell als gezielter Angriffspunkt für verschiedene Therapien denkbar – etwa bei Lungen-, Magen-, Darm- oder Nierenkrebs. Derzeit untersuchen Bayer-Forscher das Therapie-Potenzial ihres neuen Duos im Rahmen von klinischen Phase-I-Studien an Patienten mit unterschiedlichen Tumoren. In zukünftigen Studien soll das CA9-ADC gegebenenfalls auch in Kombination mit anderen Chemotherapien verabreicht werden, die sich in den jeweiligen Tumortypen als wirksam erwiesen haben. Diese stören die Zellteilungen noch zusätzlich und verstärken die Wirksamkeit des Immunokonjugats.

Trotzdem gibt es einige Hindernisse zu überwinden: „Wir wissen im Einzelfall nicht, ob tatsächlich alle Krebs-

zellen das CA9 auf ihrer Oberfläche präsentieren“, so Lerchen. Hier hilft es, dass einmal in einer Tumorzelle freigesetztes MMAE in Nachbarzellen eindringen und diese abtöten kann, selbst wenn diese selbst kein CA9 tragen.

### Die Molekül-Riesen: 20.000 Atome pro Antikörper

Bislang ist auch nicht sicher geklärt, ob die Antikörper durch das dichte Tumorgewebe direkt zum Kern jeder Krebsgeschwulst vordringen können oder ob sie sich eher langsam von außen nach innen vorarbeiten müssen. Mit über 20.000 Atomen sind Antikörper allerdings vergleichsweise riesige Moleküle für eine Therapie. Zum Vergleich: Acetylsalicylsäure – der Wirkstoff in Aspirin – hat weniger als 40 Atome, Insulin besteht aus 788 Atomen.

Solche Dimensionen seiner „Zauber- kugeln“ hatte der deutsche Nobelpreisträger Paul Ehrlich vermutlich nicht im Sinn, als er bereits Ende des 19. Jahrhunderts davon träumte, Krankheitserreger und Krebsgeschwüre anhand unverwechselbarer Merkmale erkennen und vernichten zu können – ohne den gesunden Zellen des Körpers zu schaden. Nachdem Wissenschaftler in den 1960er- und 1970er-Jahren die Funktion der Antikörper im menschlichen Immunsystem entschlüsselt und deren therapeutisches Potenzial erkannt hatten, entwickelten der Argentinier César



Antikörper-Produktion: Im Sonderlabor für hochaktive Wirkstoffe stellt Dr. Joachim Krüger (Foto li.) in der Chemischen Entwicklung bei Bayer HealthCare das Zellgift MMAE her. In Krügers Labor wird es anschließend auch fest an den Antikörper gekoppelt. Dazu dient eine Glovebox (Foto re.), in der die Substanzen – von Umgebungseinflüssen abgeschirmt – bearbeitet werden können.

Milstein und der Deutsche Georges Köhler im Jahr 1975 eine Massen-Produktionstechnik spezifischer Antikörper. 1984 erhielten sie dafür den Nobelpreis für Medizin.

Mittlerweile wurde das Herstellungsverfahren jedoch modifiziert: Holten sich die Wissenschaftler zu Beginn noch die ersten Bauanleitungen für Teile der Antikörper über Umwege aus Mauszellen, wird die Gensequenz für die modernen sogenannten monoklonalen Antikörper heute komplett aus menschlicher DNS zusammengesetzt. Bei der Produktion setzt man allerdings nach wie vor auf Säugetierzellen. „Ein derart großes und kompliziertes Protein können wir im Labor einheitlich gar nicht synthetisch herstellen“, sagt Boedeker.

### Per Gentechnik zu hochreinen Antikörpern für die Therapie

Mit einer Lizenz der Biotech-Firma MorphoSys haben die Bayer-Forscher das Grundgerüst eines passenden Antikörpers identifiziert und dieses gezielt auf das Zielmolekül CA9 zugeschnitten. Die entsprechende Gensequenz integrierten sie in die Erbinformationen von Hamsterzellen, die mithilfe dieses detaillierten Bauplans monoklonale Antikörper in Massen produzieren können. Dafür wachsen sie mit Nährstoffen versorgt in großen Bioreaktoren – Fassungsvermögen: rund 200 Liter.

Die Zellen setzen die Eiweißmoleküle nach und nach in das sie umgebende Kulturmedium frei. Über mehrere Reinigungsschritte werden die gesuchten Antikörper schließlich von anderen Fremdbestandteilen befreit und von Boedekers Team für ihren späteren Therapieeinsatz zu einem hochreinen Produkt aufbereitet.

Für die Herstellung des eigentlichen Zellgifts MMAE ist die Forschergruppe um Dr. Joachim Krüger in der Chemischen Entwicklung von Bayer HealthCare in Wuppertal zuständig. Dazu betreiben sie eine rund 30-stufige und damit äußerst aufwendige chemische Synthese. In Krügers Labor werden die beiden Komponenten des Konjugats, das Zellgift MMAE und der Antikörper, schließlich auch fest aneinander gebunden. Dabei werden beim Antikörper mittels eines chemischen Reduktionsschritts bis zu acht freie Schwefel-Wasserstoff-Bindestellen freigelegt, an die sich das Zellgift anheften kann. Ob der Antikörper die vergleichsweise winzigen Todesboten an zwei, vier, sechs oder acht Stellen trägt, bestimmt die statistische Verteilung. „Wir haben unsere Synthese so ausgelegt, dass im Durchschnitt vier Gift-Moleküle gebunden sind“, rechnet Krüger vor. „Auch wenn wir uns natürlich um ein möglichst homogenes Produkt bemühen, haben wir es hier nicht wie bei vielen anderen synthetischen Medikamenten mit

einer reinen Substanz zu tun. Sondern mit einem Gemisch, das wir allerdings in gleichbleibender Zusammensetzung reproduzierbar herstellen“, sagt der Chemiker. Die Entwicklung war Neuland für seinen Fachbereich. Viele Tests mussten neu konzipiert und den Bedürfnissen der Antikörper angepasst werden. Boedeker und Krüger haben diesen „Fall für zwei“ gut gelöst: 2009 wurden sie mit ihren Teams für ihre innovative Arbeit mit dem internen Forschungspreis von Global Drug Discovery ausgezeichnet.

### Angriffstaktik: Als Trojanisches Pferd mitten in die Krebszelle

So eng wie die beiden Entwicklungsbereiche miteinander verzahnt sind, sollten auch Antikörper und Wirkstoff stets miteinander verbunden bleiben. Denn das Zellgift darf sich während der Zirkulation der Antikörper im Blut nicht von seinem Trägermolekül lösen – und diese halten sich teilweise bis zu vier Wochen im Körper auf, ehe sie komplett in der Leber abgebaut werden. „Erst wenn der Antikörper an einer Tumorzelle ange-dockt hat und von dieser ins Innere aufgenommen wird, soll der Wirkstoff möglichst elegant abgetrennt werden“, erklärt Lerchen. Das Unternehmen Seattle Genetics hat dazu eine entsprechend raffinierte Lösung gefunden: Spezielle, in der Zelle bereits vorhandene Enzyme mit dem Namen Cathepsin übernehmen

# Eine Erfindung des Immunsystems

*So künstlich der Produktionsprozess der Immunokonjugate erscheint, so natürlich ist deren Hauptkomponente: Antikörper sind ein sehr wichtiger Bestandteil der menschlichen Immunabwehr. Der Körper investiert sehr viel Energie in die Produktion dieser Y-förmigen Eiweißmoleküle. An den zwei kurzen Armen binden sie ihr Zielmolekül, das sogenannte Antigen. Dabei sind sie sehr wählerisch: Oft sind es nur Kleinigkeiten – einzelne Windungen oder Ladungen im Molekül –, die nach dem ersten Kontakt doch nicht in die enge Bindungstasche passen. Doch wenn sich ein Molekül schließlich in die Arme eines Antikörpers begibt, bleibt es dort fest gebunden und lässt sich nur noch schwer lösen. Die genaue Form der Bindestellen variiert von Antikörper zu Antikörper. Dafür kombinieren bestimmte Zellen des menschlichen Immunsystems, die B-Lymphozyten, per Zufall etwa 170 Gene auf unterschiedlichen Chromosomen miteinander. Durch dieses Puzzlespiel in Kombination mit weiteren Molekülmodifikationen entstehen bis zu  $10^{11}$  unterschiedliche Antikörper-Gerüste – eine schier unendliche Zahl an Strukturen, die eindringende Fremdlinge wie Bakterien oder Viren im Körper rechtzeitig binden und erkennen sollen – als eine Art Gesundheitspolizei.*



Wirkstoff-Shuttle: Die Computeranimation zeigt die Molekülstruktur des Antikörpers. daran gekoppelt wird der Wirkstoff vom Immunsystem unerkannt direkt zur Krebszelle transportiert.

diese Aufgabe. Sie schneiden das Verbindungsstück zwischen Antikörper und Wirkstoff heraus – den sogenannten Linker. Im Zellinneren kann das Gift dann freigesetzt werden. Also genau wie einst die griechischen Soldaten verborgen im Trojanischen Pferd ihre Gegner überlisteten, gelangt das Zellgift zunächst gekoppelt an seinen Antikörper unerkannt mitten in die feindlichen Reihen und beginnt dann sein Zerstörungswerk in der Krebszelle. Das Design dieses Linkers haben die Bayer-Forscher deshalb in Lizenz von Seattle Genetics übernommen.

## Personalisierte Medizin im Kampf gegen den Krebs

Insgesamt kommt das Immunokonjugat im Lauf der Herstellung mit 130 Chemikalien und Reagenzien in Berührung. Am Ende steht ein gefriergetrocknetes weißes Pulver, das nach etwa einem halben Jahr Produktionszeit und zahlreichen Qualitäts- und Toxizitätstests schließlich an die Kliniken verteilt wird, die an den laufenden Phase-I-Studien teilnehmen. In diesen Studien untersuchen Ärzte in den USA und den Niederlanden das CA9-Immunokonjugat erstmals in Patienten. Dafür lösen sie

das Medikament in einem halben Liter Kochsalzlösung und verabreichen es intravenös. „Die optimale Dosis hängt davon ab, wie viel Gift man zur Bekämpfung des Tumors braucht und wie viel Wirkstoff der Körper tatsächlich verträgt“, erklärt Fritz-Zieroth.

Die tatsächliche Dosierung für eine mögliche Therapie in bestimmten Tumortypen wird später festgelegt. Denn: Krebs ist nicht gleich Krebs. Die Therapie muss immer auf die jeweiligen Zellveränderungen eines bestimmten Tumortypes abgestimmt werden. Die Diagnostik gewinnt also in der Medizin der Zukunft zunehmend an Bedeutung: Zellbiologen suchen nach den jeweils spezifischen Kennzeichen des Tumorgewebes. So wird man CA9-Immunokonjugate beispielsweise nur bei Patienten anwenden, deren Tumorzellen die Carboanhydrase 9 auf ihrer Oberfläche tragen. „Durch diesen personalisierten Therapieansatz erhoffen wir uns, den Patienten die für sie am besten geeignete Behandlung zukommen zu lassen und ihnen unnötige Nebenwirkungen zu ersparen“, erklärt Krüger.

Um die richtige Patientengruppe für neue Therapien auszuwählen, wird laut Fritz-Zieroth bereits in den frühen For-

schungsphasen die passende Diagnostik ausgewählt. Dafür geht Bayer HealthCare auch externe Kooperationen ein und erweitert ständig seine diagnostische Plattform für Krebstherapien mit den neuesten Technologien, wie etwa durch die Kooperation mit dem Spezialpharma- und Diagnostikunternehmen Prometheus Laboratories Inc. in San Diego, USA.

## Neue Analysemethoden helfen bei Medikamentenentwicklung

Spezifische Analysemethoden zur Identifikation von bestimmten Molekülen in den Gewebe- oder Blutproben der Krebspatienten könnten nicht nur bei der eigentlichen Krebstherapie helfen, sondern auch bereits die Entwicklungszeit neuer Medikamente verkürzen. Die Arbeit der Spurensicherer am Tatort Krebszelle birgt also noch jede Menge Herausforderungen – und Hoffnung für Patienten.

 [www.research.bayer.de/immunokonjugate](http://www.research.bayer.de/immunokonjugate)  
Weiterführende Links und Infos zum Thema