

7 Ausblick

Ziel bei der Generierung von TCR-reprogrammierten T-Zellen ist es, Immunzellen herzustellen, die spezifische Immunantworten gegen virusinfizierte oder maligne entartete Zellen vermitteln, ohne schädliche Nebenwirkungen hervorzurufen. Verbesserte Vektorsysteme erlauben den effizienten Transfer von TCR in primäre autologe Zellen. Dadurch können relativ schnell große Mengen der T-Zellen mit gewünschter Spezifität generiert werden.

Um die Sicherheit des TCR-Gentransfers zu erhöhen, müssen Bedingungen etabliert werden, die Autoimmunität nach TCR-Reprogrammierung von T-Zellen ausschließen. Autoimmunität könnte zum einen durch die Bildung hybrider TCR-Heterodimere, von denen einige Selbstantigene erkennen könnten und zum anderen durch endogene, potentiell autoreaktive TCR auf TCR-reprogrammierten T-Zellen ausgelöst werden. Die Bildung von Hybriden aus exo- und endogenen TCR-Ketten nach TCR-Gentransfer in polyklonale T-Zellpopulationen könnte durch die Einführung von Mutationen in exogene TCR-Gene, welche die Paarung mit endogenen TCR inhibieren würden, erreicht werden. Ebenso könnten exogene TCR-Gene durch Linkersequenzen verbunden werden. Weiterhin ist das Risiko der Hybridbildung bei Transfer von cTCR-Genen reduziert, da chimäre TCR-Ketten präferentiell miteinander paaren (129). Es bleibt jedoch zu untersuchen, ob mutierte TCR-Ketten, Linkersequenzen oder Fusionsproteine der cTCR immunogen sind und ob die Fusion mit Teilen der signaltransduzierenden Domäne des CD3- oder Fc-Rezeptor-Komplexes ausreicht, um vollständige Aktivierungssignale zu transferieren. Einerseits sollte es möglich sein, Strategien zu entwickeln, welche die Expression von endogenen TCR in TCR-reprogrammierten T-Zellen inhibieren würden. Es wäre denkbar, endogene TCR durch kleine interferierende RNA-Sequenzen (*small interfering RNA*, siRNA), die exogene, entsprechend veränderte TCR nicht erkennen, zu inhibieren. Zum anderen könnten TCR-Gene in autologe T-Zellen einer bekannten, harmlosen Spezifität transferiert werden, wodurch die Gefahr der Autoimmunität minimiert werden würde (130).

Um die Praktikabilität der Herstellung von TCR-reprogrammierten T-Zellen zu gewährleisten und das Überleben sowie die Funktion der TCR-reprogrammierten T-Zellen *in vivo* zu sichern, muss die *in vitro* Kultivierungs-Phase möglichst kurz sein. Es bleibt zu analysieren, ob sich das *Homing* von T-Zellen durch TCR-Reprogrammierung bzw. *in vitro*-Kultivierung ändert.

Die Generierung hochaffiner tumorreaktiver TCR ist ein wichtiger Ansatz, um die Avidität von TCR-reprogrammierten T-Zellen gegenüber Tumorantigenen zu erhöhen, vor allem, da Tumorzellen oft wenig Antigen exprimieren. Dabei bleibt zu untersuchen, ob artifiziell hohe TCR-Affinitäten weiterhin die serielle Erkennung der antigenexprimierenden Zielzellen zulassen. Außerdem muss ausgeschlossen werden, dass hochaffine TCR Kreuzreaktivitäten zu Selbstantigenen besitzen. Chimäre Antikörper-basierte TCR erlauben die spezifische Erkennung von Tumorantigenen in MHC-unabhängiger Weise und können damit Tumorzellen erkennen, die ihre MHC-Moleküle herabreguliert haben. Da Zielantigene auf Tumoren in den meisten Fällen *shared* TAA sind, ist die Tumorimmuntherapie meist eine Gratwanderung zwischen ausreichender Induktion von Immunität gegen TAA und dem Vermeiden von Autoimmunität. Deshalb wäre die Ausstattung der genetisch veränderten Zellen mit Selbstmordgenen eine wichtige Sicherheitsmodalität, welche die Eliminierung der adoptiv transferierten T-Zellen möglich macht (131). Dieser Ansatz könnte von der Verwendung wenig immunogener Selbstmordgene profitieren. Alternativ dazu könnten TCR mit Sequenzen ausgestattet werden, die es Antikörpern erlauben, spezifisch TCR-reprogrammierte T-Zellen zu depletieren.

Die Effektivität adoptiv transferierter TCR-reprogrammierter T-Zellen könnte durch folgende Strategien verbessert werden: 1) Transfer von TCR verschiedener Spezifitäten, um Tumorzellen die Umgehung der Immunantwort (*Immune escape*) zu erschweren; 2) Kotransfer von TCR-reprogrammierten CD4⁺ T-Zellen, um CTL mit T-Zellhilfe bzw. IL-2 zu versorgen; 3) Ausstattung von TCR-reprogrammierten T-Zellen mit anti-apoptischen Mediatoren, um das Überleben der T-Zellen *in vivo* zu verlängern und 4) zusätzliche myeloablative Therapie von Tumorpatienten (9) bzw. Gabe von Entzündungsmediatoren, z.B. CpG (132), um die Infiltration der T-Zellen in Tumorzellen zu erleichtern.