

Aus der
Abteilung für Klinische Pharmakologie
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München



**Gesteigerte Migration in das Tumorgewebe mittels
transduziertem Chemokinrezeptor CCR8 und Schutz vor den
immunsuppressiven Signalen von TGF- β und PD-L1 zur
Verbesserung der adoptiven T-Zell-Therapie**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Theo Lorenzini

aus
Bozen, Italien

Jahr
2024

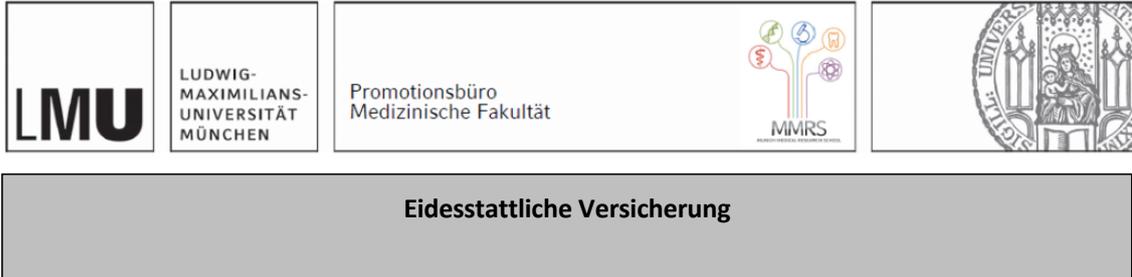
Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Erstes Gutachten: Prof. Dr. Sebastian Kobold
Zweites Gutachten: Prof. Dr. Stefan Endres
Drittes Gutachten: Prof. Dr. Andreas Humpe
weitere Gutachten: Prof. Dr. Marion Subklewe

Dekan: Prof. Dr. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 07.11.2024

Affidavit



Eidesstattliche Versicherung

Lorenzini, Theo

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

Gesteigerte Migration in das Tumorgewebe mittels transduziertem Chemokininrezeptor CCR8 und Schutz vor den immunsuppressiven Signalen von TGF- β und PD-L1 zur Verbesserung der adoptiven T-Zell-Therapie

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 08.11.2024

Ort, Datum

Theo Lorenzini

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

Inhaltsverzeichnis

Affidavit	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abkürzungsverzeichnis	5
Zugrunde liegende Originalarbeiten	6
1. Einleitung	7
1.1 Vormarsch der Tumorimmuntherapien	7
1.2 Adoptive T- Zell-Therapien und chimäre Antigenrezeptoren	7
1.3 Limitationen von CAR T-Zell-Therapien	8
1.4 Chemokinrezeptoren zur Verbesserung der Infiltration des Tumorgewebes.....	9
1.5 Blockade inhibitorischer Stimuli	10
1.5.1 Prinzipien der Immunsuppression von T-Zellen	10
1.5.2 PD-1.....	10
1.5.3 TGF- β	11
1.6 Fragestellung der Arbeit	11
2. Zusammenfassung	13
3. Abstract (English)	14
4. Publikationen und Beitrag	15
4.1 Combined tumor-directed recruitment and protection from immune suppression enable CAR T cell efficacy in solid tumors	15
4.1.1 Eigener Beitrag zur Publikation	15
4.1.2 Originalartikel.....	15
4.2 Rational design of PD-1-CD28 immunostimulatory fusion proteins for CAR T cell therapy	16
4.2.1 Eigener Beitrag zur Publikation	16
4.2.2 Originalartikel.....	16
5. Literaturverzeichnis	17
Danksagung	22
Publikationsliste	23

Abkürzungsverzeichnis

ALL	Akute lymphatische Leukämie
BCMA	<i>B-cell maturation antigen</i> (B-Zell-Reifungsantigen)
CAR	Chimärer Antigenrezeptor
CAF	<i>cancer-associated fibroblast</i>
DLBCL	Diffus großzelliges B-Zell-Lymphom
DNR	Dominant-negativer Rezeptor
MDSC	<i>Myeloid-derived suppressor cell</i> (myeloide Suppressorzelle)
PD-1	<i>Programmed cell death protein 1</i>
PD-L1	<i>Programmed cell death 1 ligand 1</i>
TAM	Tumor-assoziierte Makrophagen
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TGF- β	<i>Transforming growth factor-β</i>
T _{reg}	Regulatorische T-Zelle

Zugrunde liegende Originalarbeiten

Die folgenden Originalarbeiten liegen dieser kumulativen Dissertation zugrunde:

1. Cadilha BL, Benmebarek MR, Dorman K, Oner A, **Lorenzini T**, Obeck H, Vanttinen M, Di Pilato M, Pruessmann JN, Stoiber S, Huynh D, Märkl F, Seifert M, Manske K, Suarez-Gosalvez J, Zeng Y, Lesch S, Karches CH, Heise C, Gottschlich A, Thomas M, Marr C, Zhang J, Pandey D, Feuchtinger T, Subklewe M, Mempel TR, Endres S, Kobold S.
Combined tumor-directed recruitment and protection from immune suppression enable CAR T cell efficacy in solid tumors.
Sci Adv. 2021; 7:eabi5781.
doi: 10.1126/sciadv.abi5781
2. **Lorenzini T***, Cadilha BL*, Obeck H, Benmebarek MR, Märkl F, Michaelides S, Strzalkowski T, Briukhovetska D, Müller PJ, Nandi S, Winter P, Majed L, Grünmeier R, Seifert M, Rausch S, Feuchtinger T, Endres S, Kobold S.
Rational design of PD-1-CD28 immunostimulatory fusion proteins for CAR T cell therapy.
Br J Cancer. 2023; 129:696-705.
doi: 10.1038/s41416-023-02332-9

* geteilte Erstautorenschaft

1. Einleitung

1.1 Vormarsch der Tumorimmuntherapien

Krebserkrankungen haben einen bedeutsamen Einfluss auf unsere Gesellschaft, allein im Jahr 2023 werden in Deutschland voraussichtlich ungefähr 240.000 Todesfälle (130.000 Männer und 110.000 Frauen) auf eine Krebserkrankung zurückzuführen sein (Malvezzi et al. 2023). Dies illustriert den unverändert hohen Bedarf an innovativen Ansätzen für die Behandlung von Krebserkrankungen, insbesondere in fortgeschrittenen Stadien.

Eine Gemeinsamkeit aller Krebserkrankungen ist die unkontrollierte Proliferation des malignen Tumorgewebes, wodurch sich die Tumorzellen in umliegendes Gewebe ausbreiten und schlussendlich über kontinuierliches Wachstum oder das Blut- oder Lymphsystem in Form von Metastasen in andere Bereiche des Körpers absiedeln können. Eine erfolgreiche medizinische Therapie besteht deshalb im Wesentlichen darin, alle entarteten Zellen zu erkennen und aus dem Körper zu entfernen und gesundes Gewebe dabei weitestgehend zu schonen. Aus diesem Grund ist das Ziel von modernen Behandlungsmethoden, die Krebstherapie individualisiert an die jeweilige Tumorentität eines jeden Patienten anzupassen, um Schäden an gesundem Gewebe und das daraus resultierende Nebenwirkungsspektrum zu verringern (Bashraheel et al. 2020).

Ein vielversprechender Ansatz solcher Therapien weist den natürlichen Abwehrmechanismen des Körpers eine wichtige Rolle zu: Der „Vater der Krebsimmuntherapie“, William Coley, machte im 19. Jahrhundert eine interessante Beobachtung: Bei einigen Patienten mit Weichteilsarkom, die zusätzlich eine Erysipel-Infektion durchmachten, wurde eine rückläufige Tumorausdehnung festgestellt. (Decker et al. 2009). Die Erkenntnis, dass das Immunsystem einen Einfluss auf die Tumorgenese und -kontrolle hat, war jedoch lange Zeit umstritten (Parish 2003).

Mittlerweile werden die weitreichenden Erkenntnisse darüber, wie das Immunsystem Krankheiten wie Infektionen oder eigene entartete Zellen erkennt und bekämpft, in der Forschung und dem klinischen Alltag genutzt und zum Wohle des Patienten im Sinne der Tumorimmuntherapie umgesetzt. Moderne Immuntherapien nehmen daher in bestimmten klinischen Situationen, neben bisher etablierten Krebstherapien wie der chirurgischen Exzision, Radio- oder Chemotherapie, eine immer bedeutendere Rolle ein (Bashraheel et al. 2020, Burugu et al. 2018, Waldman et al. 2020).

1.2 Adoptive T- Zell-Therapien und chimäre Antigenrezeptoren

Unter den zahlreichen Anwendungsgebieten im Bereich der Immuntherapien wurde der Fokus zuletzt vermehrt auf adoptive T-Zell-Therapien gerichtet. Diese Form der Immuntherapie begann mit der Entnahme menschlicher Immunzellen, wie beispielsweise Tumor-infiltrierenden Lymphozyten, und anschließender Expansion und Reinfusion als Medikament (Rosenberg et al. 1988). Diese Idee wurde im Laufe der Zeit weiterentwickelt und die isolierten T-Zellen wurden nicht nur expandiert, sondern auch genetisch verändert

und mit neuen Merkmalen ausgestattet, die es den T-Zellen ermöglichen, den Tumor besser erkennen und bekämpfen zu können.

Dieser bahnbrechende Ansatz war maßgeblich für die Entwicklung des chimären Antigenrezeptors (CAR), ein spezielles Protein, das es T-Zellen ermöglicht, ein (Tumor-) spezifisches Antigen zu binden und eine vollständige T-Zell-Antwort zu induzieren. Die sogenannte CAR T-Zell-Therapie zeigte eine bedeutende klinische Wirksamkeit bei hämatologischen, B-Zell-assoziierten Tumorentitäten. Die erhöhte Expression von CD19 auf der Oberfläche der B-Zell-Neoplasien stellte sich als ideales Ziel für die CAR T-Zell-Therapie heraus. Patienten mit rezidivierenden oder therapierefraktären Verläufen konnten plötzlich vollständige Remissionen erleben, was zu der erstmaligen Zulassung der CAR T-Zell-Therapien 2017 in den Vereinigten Staaten und 2018 in der Europäischen Union bei akut lymphatischer Leukämie (ALL) und diffus großzelligem B-Zell-Lymphom (DLBL) führte (Maude et al. 2018, Neelapu et al. 2017, Schuster et al. 2018).

Seitdem wurde der klinische Einsatz von CAR T-Zellen kontinuierlich erweitert, sodass diese auch beispielsweise beim Mantelzelllymphom (Wang et al. 2020) oder mittels eines anti-B-Zell-Reifungsantigen (BCMA) CAR bei rezidiviertem oder refraktärem multiplen Myelom (Munshi et al. 2021) eingesetzt und zuletzt sogar bei Autoimmunkrankheiten wie systemischem Lupus Erythematodes (Mougiakakos et al. 2021) erprobt wurden.

1.3 Limitationen von CAR T-Zell-Therapien

Obwohl die Zulassung der CAR T-Zell-Therapie ein Meilenstein in der Geschichte der Immuntherapien und der personalisierten Medizin war, stößt die Therapie mit CAR T-Zellen bisweilen auf Limitationen. Während die Wirkung bei hämatologischen Tumorentitäten effektiv ist, führte der Versuch, die Therapie auch bei soliden Tumoren anzuwenden, nur zu geringem Erfolg (Sternier et al. 2021).

Die Gründe dafür sind vielfältig: Tumorzellen können beispielsweise das Zielantigen verlieren und dadurch der Erkennung der CAR T-Zellen entgehen (Maude et al. 2018). Außerdem ist das Stroma solider Tumoren schwer zugänglich und dadurch die Migration und Infiltration der CAR T-Zellen in das Tumorgewebe deutlich reduziert. Hinzu kommt, dass T-Zellen der massiv immunsuppressiven Mikroumgebung solider Tumore ausgesetzt sind und dadurch nicht ihre vollständige Wirkung entfalten können (Sternier et al. 2021, Stoiber et al. 2019). Die lokale Tumormikroumgebung ist ein komplexes System, welches immunmodulatorische Zellen wie beispielsweise Tumor-assoziierte Makrophagen (TAM), *cancer-associated fibroblasts* (CAF), myeloide Suppressorzellen (MDSC) oder regulatorische T-Zellen (T_{reg}) aufweist (Quail et al. 2013, Sternier et al. 2021). Zudem kann durch das Vorhandensein inhibitorischer Stimuli wie über die Expression von Checkpoint-Molekülen die Immunantwort der therapeutischen T-Zellen gehemmt werden (Pardoll 2012, Sharpe et al. 2018) und im Sinne einer „immunologische Bremse“ die Wirksamkeit und den Therapieerfolg von CAR T-Zellen erheblich beeinträchtigen (Sternier et al. 2021, Stoiber et al. 2019).

1.4 Chemokinrezeptoren zur Verbesserung der Infiltration des Tumorgewebes

Chemokine sind Proteine, die der Familie der Zytokine angehören und durch die Bindung an spezifische Rezeptoren (Chemokinrezeptoren) die Bewegung der Leukozyten steuern (Viola et al. 2008). Sie vermitteln unter anderem die Migration von Immunzellen hin zu Entzündungsherden und sind dadurch fundamentaler Bestandteil der Immunantwort (von Andrian et al. 2000). Die Klassifikation der verschiedenen Chemokine beruht auf Anzahl und Anordnung der Cysteine, welche durch Bildung von Disulfidbrücken für die Stabilisierung des Proteins sorgen. Sie werden anhand der beiden N-terminalen Cysteinreste in unterschiedliche Familien eingeteilt (Zlotnik et al. 2000): Chemokine aus der CC-Familie sind charakterisiert durch zwei direkt aufeinanderfolgende Cysteine, Chemokine aus der CXC-Familie durch eine zwischen den beiden Cysteinen zwischengeschaltete Aminosäure, die CX3C-Familie durch drei Aminosäuren zwischen beiden Cysteinen und die (X)C-Familie durch das fehlende erste und dritte Cystein, sodass folglich nur eine Disulfidbrücke gebildet werden kann (Viola et al. 2008).

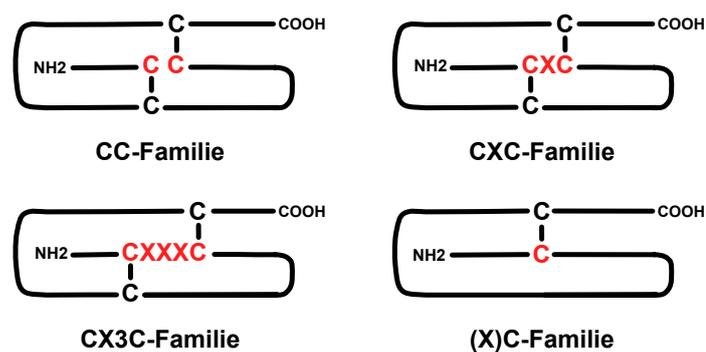


Abbildung 1: Grundlage für die Einteilung der Chemokine in verschiedene Familien ist die Position der beiden Cysteinreste in der Nähe der N-terminalen Region. Abbildung adaptiert nach de Munnik et al. 2015.

Im Tumormilieu können verschiedene Chemokine vorhanden sein, welche entweder von den Tumorzellen selbst oder auch von Stroma- oder Immunzellen sezerniert werden, woraufhin weitere Immunzellen in den Tumor wandern und dadurch die Immunantwort modulieren (Nagarsheth et al. 2017). Aus diesem Grund wurde bereits in einigen Modellen untersucht, inwiefern die Infiltration von CAR T-Zellen in das Tumorgewebe durch Überexpression eines Chemokinrezeptors auf der Oberfläche der CAR T-Zellen verbessert werden kann, wie beispielsweise durch CCR2 (Moon et al. 2011), CCR4 (Rapp et al. 2016) oder CXCR6 (Lesch et al. 2021). Durch die Überexpression von Chemokinrezeptoren können CAR T-Zellen zwar vermehrt in das Tumorgewebe wandern, sind dort aber weiterhin den starken inhibitorischen Signalen ausgesetzt, welche sich negativ auf die Immunantwort und dadurch den Therapieerfolg auswirken können (Sterner et al. 2021).

1.5 Blockade inhibitorischer Stimuli

1.5.1 Prinzipien der Immunsuppression von T-Zellen

Inhibitorische Signale spielen eine essenzielle Rolle bei der physiologischen Regulierung der Immunantwort, sie unterbinden nämlich überschießende Reaktionen des Immunsystems, was vor allem der Vermeidung von Autoimmunreaktionen dient, bei denen gesundes, körpereigenes Gewebe von den Immunzellen angegriffen wird (Sharpe et al. 2018). Tumorzellen können diese inhibitorischen Signale jedoch gezielt nutzen, um die Wirksamkeit der Immunantwort zu schwächen. Dazu gehört vor allem die Instrumentalisierung von Checkpoint-Molekülen (Pardoll 2012, Topalian et al. 2012). Neben den membranständigen Rezeptoren gibt es zudem eine Reihe an löslichen Faktoren, die wichtig für das Überleben der Tumorzellen sind (Rabinovich et al. 2007).

Es verwundert also nicht, dass die Blockade inhibitorischer Stimuli auch als wegweisender Fortschritt der Immuntherapien betrachtet wird. Durch das daraus resultierende Lösen der „immunologischen Bremse“ kann nämlich die Aktivität des Immunsystems gegen Tumorzellen verbessert werden (Boussiotis 2016, Rabinovich et al. 2007, Sterner et al. 2021, Topalian et al. 2012).

1.5.2 PD-1

Der prominenteste der Checkpoint-Rezeptoren ist das *programmed cell death protein 1* (PD-1), ein Checkpoint-Rezeptor auf T-Zellen, der normalerweise zur Verhinderung einer übermäßigen Immunantwort dient (Boussiotis 2016). Tumorzellen nutzen jedoch gezielt den PD-1-Signalweg, um die Aktivierung von T-Zellen zu unterdrücken und somit der Immunantwort und -kontrolle zu entgehen. Beispielsweise erhöhen Tumorzellen die Expression des entsprechenden Liganden wie beispielsweise PD-L1, nachdem sie proinflammatorischen Zytokinen wie Typ I und II Interferonen und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) ausgesetzt waren, die wiederum typischerweise von aktivierten T-Zellen sezerniert werden (Boussiotis 2016). Die Expression dieser Liganden kann dann die antitumorale Immunreaktion zugunsten des Tumorerhalts begrenzen.

Gleichzeitig unterliegen T-Zellen einer physiologischen aktivierungsinduzierten Hochregulation von inhibitorischen Rezeptoren an der Zelloberfläche, welche nach Bindung des entsprechenden Liganden die Immunantwort einschränken. Nicht umsonst hat sich deshalb die gezielte Blockade von PD-1 durch monoklonale Antikörper wie beispielsweise Pembrolizumab als wirksamer Ansatz moderner Krebstherapien etabliert (Boussiotis 2016). Folglich zeigen auch Strategien, welche die adoptive T-Zell-Therapie mit der Checkpoint-Blockade kombinieren, vielversprechende Ergebnisse in Hinblick auf das Erreichen einer funktionalen Persistenz von CAR T-Zellen (Grosser et al. 2019). In präklinischen Modellen konnte gezeigt werden, dass über die Checkpoint-Blockade die Aktivität und Funktion von erschöpften CAR T-Zellen wiederhergestellt und dadurch eine bessere Tumorkontrolle erreicht werden kann (Cherkassky et al. 2016, John et al. 2013). In einem klinischen Fall wurde ein Patient mit therapierefraktärem DLBCL mit anti-CD19 CAR T-Zellen behandelt; eine zusätzliche Infusion mit Pembrolizumab führte zu einer verbesserten Funktion und

Expansion der CAR T-Zellen und dadurch zu einem Rückgang der Tumorkläsionen (Chong et al. 2017). Weitere vielversprechende erste Untersuchungen bestätigen die gesteigerte Wirkung und gleichzeitige Sicherheit der anti-CD19 CAR T-Zell-Therapie in Kombination mit einem PD-1-Antikörper bei Patienten mit therapierefraktären B-Zell Lymphomen (Cao et al. 2019, Chong et al. 2022) oder ALL (Li et al. 2018).

Die gezielte Blockade des PD-1-PD-L1-Signalwegs durch die systemische Verabreichung von Antikörpern kann zu dem Auftreten immunbedingter Nebenwirkungen führen (Ramos-Casals et al. 2020, Topalian et al. 2012). Daher gibt es neue Ansätze, welche eine selektive Unterbrechung dieses Signalwegs bedingen und nicht systemisch, sondern ausschließlich lokal – also an den CAR T-Zellen – ihre Wirkung entfalten. Einige der Möglichkeiten sind der *knock-out* des dazugehörigen Gens (*PDCD1*) auf den T-Zellen (McGowan et al. 2020), die Ausstattung mit einem dominant-negativen Rezeptor (DNR) (Cherkassky et al. 2016), oder ein Fusionsprotein, welches den inhibitorischen Stimulus von PD-1 in eine CD28-vermittelte Costimulation umwandelt und somit nicht nur das inhibitorische Signal unterdrückt, sondern die Immunantwort aktiv verbessert (Kobold et al. 2015, Prosser et al. 2012).

1.5.3 TGF- β

Transforming growth factor- β (TGF- β) ist ein Zytokin, das von verschiedenen Zellen, einschließlich Tumorzellen, produziert wird. TGF- β kann die Aktivität der Immunzellen ebenfalls hemmen und dadurch die Wirksamkeit der Immunantwort gegen Tumorzellen beeinträchtigen und das Tumorstwachstum fördern (Massagué 2008). TGF- β wirkt über eine Reihe von Mechanismen auf die Immunantwort ein. Es beeinflusst entscheidende Schritte der T-Zell-vermittelten Immunantwort gegen Tumore, wie beispielsweise T-Zell-Aktivierung, Proliferation, Differenzierung und Migration in die Tumorumgebung sowie in die tumorabführenden Lymphknoten (Derynck et al. 2021).

Aus diesem Grund kann die Blockade des TGF- β -Signalwegs zur Verbesserung der Funktion der T-Zellen mit verbesserter Tumorkontrolle führen (Tauriello et al. 2022), sodass auch hier über die selektive Unterbrechung des Signalwegs mittels eines DNR auf der Zellmembran in Kombination mit CAR T-Zellen beeindruckende Ergebnisse beim Prostatakarzinom (Kloss et al. 2018) und non-Hodgkin Lymphom (Bollard et al. 2018) gezeigt werden konnten.

1.6 Fragestellung der Arbeit

Trotz der Limitationen, insbesondere bei soliden Tumoren, bieten Therapien mit CAR T-Zellen vielversprechende Zukunftsaussichten. Da nicht ein einziger Faktor für die Limitation der CAR T-Zell-Therapie verantwortlich ist, sondern mehrere Achsen eine Rolle spielen, ist ein multimodaler Ansatz erforderlich, um diese Hindernisse zu überwinden. Obwohl die CAR T-Zellen beispielsweise durch zusätzliche Ausstattung mit Chemokinrezeptoren in der Lage sind, das Stroma von soliden Tumoren besser zu durchdringen und zu infiltrieren, bleiben sie den immunsuppressiven Signalen des Tumors in dessen Milieu ausgesetzt. Eine mögliche Lösung liegt daher in der Ausstattung der CAR T-Zellen mit mehreren Rezeptoren. Die Weiterentwicklung dieser Ausstattung hat nicht nur

das Potential, die therapeutische Wirksamkeit der CAR T-Zellen zu verbessern, sondern auch die Anwendung auf ein breiteres Spektrum an Tumorentitäten auszuweiten und die Präzision der CAR T-Zell-Therapie zu erhöhen.

In den hier vorgestellten Publikationen wurden neue Ansätze analysiert, welche die Grundlage für eine maßgeschneiderte, multimodale CAR T-Zell-Therapie bilden können: Die zusätzliche Ausstattung der CAR T-Zellen mit einem Chemokinrezeptor (CCR8) soll die Migration in das Tumorgewebe fördern. Zudem wird analysiert, inwiefern CAR T-Zellen von einem Schutz vor inhibitorischen Stimuli (TGF- β und PD-1) profitieren können, sodass im präklinischen Modell eine optimale Immunantwort gewährleistet und damit einhergehend eine verbesserte Tumorkontrolle und Therapieantwort erzielt werden kann.

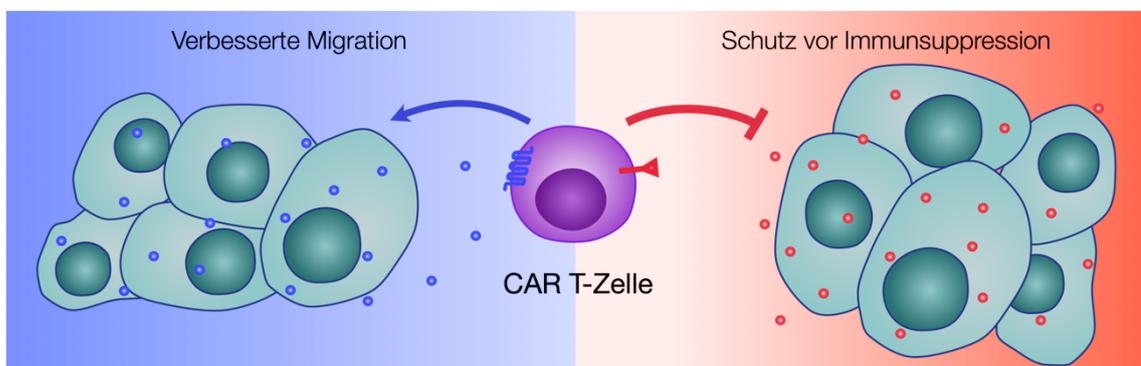


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Fragestellung dieser Arbeit: Untersuchung der verbesserten Migration von CAR T-Zellen in das Tumorgewebe bei gleichzeitigem Schutz vor immunsuppressiven Stimuli im Tumormilieu.

2. Zusammenfassung

Die CAR T-Zell-Therapie stellt sich in der Behandlung von soliden Tumoren in bisherigen Studien als ineffektiv heraus. Ausschlaggebend hierfür sind die verringerte Infiltration in das Tumorgewebe und die Immunsuppression der CAR T-Zellen durch das Tumormilieu. In den beiden hier vorgestellten Publikationen werden innovative Ansätze untersucht, um diese Herausforderungen zu überwinden und die Wirksamkeit der CAR T-Zelltherapie zu verbessern.

In der ersten Publikation wurde CCR8 genutzt, um die CAR T-Zellen vermehrt in das Tumorgewebe zu leiten. Gleichzeitig schützte ein dominant-negativer TGF- β -Rezeptor (DNR) die T-Zellen vor der Hemmung durch TGF- β . Es wurde identifiziert, dass CCL1, der Ligand von CCR8, von aktivierten T-Zellen produziert wird. Dadurch entsteht ein Rückkopplungsmechanismus, wodurch weitere CCR8⁺ (CAR) T-Zellen in den Tumor migrieren. Diese anhaltende und verbesserte Infiltration von modifizierten T-Zellen, in Kombination mit dem Schutz vor TGF- β , führte zu einer gesteigerten therapeutischen Wirksamkeit. Die Ergebnisse zeigen, dass die gleichzeitige Integration von CCR8 und DNR in CAR T-Zellen einen multimodalen, vielversprechenden Ansatz für die Verbesserung der CAR T-Zell-Therapie darstellt.

Die zweite Publikation untersucht die Verwendung von immunstimulierenden Fusionsproteinen (IFP) zur Umwandlung von immunsuppressiven Signalen in eine T-Zell-Aktivierung. Hierfür wird der bekannte PD-1-PD-L1-Signalweg genutzt: Das PD-1 Signal soll über den IFP in eine CD28-vermittelte Costimulation umgewandelt werden. Da es noch keinen Konsens bezüglich der optimalen Konfiguration eines IFPs gibt, wurden verschiedene Varianten des PD-1-CD28 IFPs verglichen. IFP-Konstrukte, deren extrazelluläre Domäne länger als die von PD-1 sind, induzieren eine volle Immunantwort in den T-Zellen und erscheinen daher ungeeignet für eine CAR-vermittelte Tumorthherapie. IFP-Konstrukte mit einer physiologischen extrazellulären PD-1-Länge zeigten hingegen eine verbesserte Funktion und Wirkung der CAR T-Zellen *in vitro* und *in vivo*.

3. Abstract (English)

CAR T cell therapy proves to be ineffective in the treatment of solid tumors due to reduced infiltration into the tumor tissue and to immunosuppression of CAR T cells by the tumor microenvironment. Both publications investigate innovative approaches to overcome these challenges and enhance the efficacy of CAR T cell therapy.

In the first publication, CCR8 was used to guide the CAR T cells into the tumor tissue. Simultaneously, a dominant-negative TGF- β receptor (DNR) protected the T cells from inhibition by TGF- β . It was identified that CCL1, the ligand of CCR8, is produced by activated T cells. This creates a feedback mechanism, causing further CCR8⁺ (CAR) T cells to migrate into the tumor. This sustained and enhanced infiltration of modified T cells, in combination with protection from TGF- β , led to increased therapeutic efficacy. The results show that the parallel integration of CCR8 and DNR into CAR T cells is a multimodal and promising approach to improving CAR T cell therapy.

The second publication focuses on the use of immunostimulatory fusion proteins (IFP) to convert immunosuppressive signals into T cell activation. The well-known PD-1-PD-L1 signaling pathway was exploited for this purpose: the PD-1 signal is converted into CD28-mediated costimulation through the IFP. Since there is no consensus on the optimal configuration of an IFP, different variants of the PD-1-CD28 IFP were compared. IFP constructs whose extracellular domain exceeds that of PD-1, induce a full immune response in T cells and therefore appear unsuitable for CAR-mediated tumor therapy. IFP constructs with a physiological extracellular PD-1 length showed improved function and efficacy of CAR T cells *in vitro* and *in vivo*.

4. Publikationen und Beitrag

4.1 Combined tumor-directed recruitment and protection from immune suppression enable CAR T cell efficacy in solid tumors

4.1.1 Eigener Beitrag zur Publikation

Die bereits in murinen Modellen gezeigte Wirksamkeit der CAR T-Zellen mit dem Chemokinrezeptor CCR8 (Figure 2C) konnte ich auf ein humanes Modell übertragen, um das translationale Potential dieses therapeutischen Ansatzes zu bestätigen. So konnte ich zeigen, dass humane T-Zellen *in vitro* zum entsprechenden CCL1-Gradienten migrieren, sobald sie mit CCR8 transduziert wurden (Figure 5 G). Zudem war ich an der Generierung der humanen CAR T-Zellen für die *in vivo* Versuche (Figure 5 H-N) und der Durchführung derselben beteiligt. Dies beinhaltete die regelmäßige Kontrolle der Mäuse und die Unterstützung bei der Messung der Tumorgroße. Außerdem war ich bei der Überarbeitung des Manuskripts, Datenanalyse und Abbildungserstellung, der Koordination der dafür notwendigen Experimente und der ausführlichen *in vitro* und *ex vivo* Charakterisierung der humanen T-Zellen (Supplementary Figure S4) beteiligt. Letztendlich konnten wir durch diese Experimente beweisen, dass der DNR auch bei humanen CCR8-CAR T Zellen signifikanten Schutz vor Immunsuppression bietet und diese vom Rückkopplungsmechanismus durch CCL1 und CCR8 profitieren können. Dies zeigte sich sowohl in der *in vitro* Charakterisierung als auch in den Xenograft-Modellen. Mein Beitrag zu den verschiedenen Experimenten in den humanen Modellen wurde mit einer Ko-Autorenschaft anerkannt.

4.1.2 Originalartikel

Der Originalartikel „*Combined tumor-directed recruitment and protection from immune suppression enable CAR T cell efficacy in solid tumors*“ kann unter folgendem Link aufgerufen werden (*open access*):

<https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abi5781>

DOI:10.1126/sciadv.abi5781

4.2 Rational design of PD-1-CD28 immunostimulatory fusion proteins for CAR T cell therapy

4.2.1 Eigener Beitrag zur Publikation

In dieser Publikation ergänzte ich die im Labor bereits etablierten Fusionsrezeptoren mit den neuen Varianten (CTM+12EC und CTM Δ 12EC), welche durch ein zusätzliches Cystein in der extrazellulären Domäne besser dimerisieren sollen und in bereits publizierten Modellen eine verbesserte Funktion gezeigt hatten (Oda et al. 2017, Prosser et al. 2012). Nachdem ich die verschiedenen Konstrukte etablieren und die humanen T-Zellen damit transduzieren konnte (Figure 1 A-C), bestätigte ich die entsprechende Funktionalität (Figure 1 D). Daraufhin analysierte ich die T-Zell-Effektorfunktion und Proliferation mit den verschiedenen Fusionsrezeptoren, wie in Figure 2A und 2B dargestellt. Anschließend erfolgte die genaue Untersuchung der Fusionsrezeptoren zusammen mit einem anti-CD19 CAR auf den T-Zellen und die damit verbundene Lysekapazität (Figure 2C), Aktivierung und Zytokinfreisetzung (Figure 2D, 2G, Supplementary Figure 2) und Proliferation (Figure 2 E-F). Die Beobachtungen konnte ich schließlich auch *in vivo* in einem aggressiven ALL-Xenograftmodell bestätigen (Figure 4).

Ich war an der Planung und Durchführung aller Experimente beteiligt, die ich zusammen mit den Koautoren durchführte. Bei der Planung, Manuskripterstellung, Datenanalyse und Abbildungserstellung sowie den sehr umfangreichen *in vivo* Experimenten arbeitete ich intensiv mit meinem Betreuer zusammen. Wir konnten gemeinsam die konzeptuelle Idee, die verschiedenen Fusionsrezeptoren in einem humanen Modell zu vergleichen, in der vorliegenden Publikation umsetzen, weshalb wir uns in diesem Artikel die Erstautorenschaft teilen.

4.2.2 Originalartikel

Der Originalartikel „*Rational design of PD-1-CD28 immunostimulatory fusion proteins for CAR T cell therapy*“ kann unter folgendem Link abgerufen werden (*open access*):

<https://www.nature.com/articles/s41416-023-02332-9>

DOI: 10.1038/s41416-023-02332-9

5. Literaturverzeichnis

Bashraheel SS, Domling A, Goda SK.

Update on targeted cancer therapies, single or in combination, and their fine tuning for precision medicine.

Biomed Pharmacother 2020; 125:110009.

Bollard CM, Tripic T, Cruz CR, Dotti G, Gottschalk S, Torrano V, Dakhova O, Carrum G, Ramos CA, Liu H, Wu M-F, Marcogliese AN, Barese C, Zu Y, Lee DY, O'Connor O, Gee AP, Brenner MK, Heslop HE, Rooney CM.

Tumor-specific T-cells engineered to overcome tumor immune evasion induce clinical responses in patients with relapsed hodgkin lymphoma.

J Clin Oncol 2018; 36:1128-39.

Boussiotis VA.

Molecular and biochemical aspects of the PD-1 checkpoint pathway.

N Engl J Med 2016; 375:1767-78.

Burugu S, Dancsok AR, Nielsen TO.

Emerging targets in cancer immunotherapy.

Semin Cancer Biol 2018; 52:39-52.

Cao Y, Lu W, Sun R, Jin X, Cheng L, He X, Wang L, Yuan T, Lyu C, Zhao M.

Anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells in combination with nivolumab are safe and effective against relapsed/refractory B-cell non-hodgkin lymphoma.

Front Oncol 2019; 9.

Cherkassky L, Morello A, Villena-Vargas J, Feng Y, Dimitrov DS, Jones DR, Sadelain M, Adusumilli PS.

Human CAR T cells with cell-intrinsic PD-1 checkpoint blockade resist tumor-mediated inhibition.

J Clin Invest 2016; 126:3130-44.

Chong EA, Alanio C, Svoboda J, Nasta SD, Landsburg DJ, Lacey SF, Ruella M, Bhattacharyya S, Wherry EJ, Schuster SJ.

Pembrolizumab for B-cell lymphomas relapsing after or refractory to CD19-directed CAR T-cell therapy.

Blood 2022; 139:1026-38.

Chong EA, Melenhorst JJ, Lacey SF, Ambrose DE, Gonzalez V, Levine BL, June CH, Schuster SJ.

PD-1 blockade modulates chimeric antigen receptor (CAR)-modified T cells: Refueling the car.

Blood 2017; 129:1039-41.

de Munnik SM, Smit MJ, Leurs R, Vischer HF.

Modulation of cellular signaling by herpesvirus-encoded g protein-coupled receptors.

Front Pharmacol 2015; 6.

Decker WK, Safdar A.

Bioimmunoadjuvants for the treatment of neoplastic and infectious disease: Coley's legacy revisited.

Cytokine Growth Factor Rev 2009; 20:271-81.

Derynck R, Turley SJ, Akhurst RJ.

TGF β biology in cancer progression and immunotherapy.

Nat Rev Clin Oncol 2021; 18:9-34.

Grosser R, Cherkassky L, Chintala N, Adusumilli PS.

Combination immunotherapy with CAR T cells and checkpoint blockade for the treatment of solid tumors.

Cancer Cell 2019; 36:471-82.

John LB, Devaud C, Duong CPM, Yong CS, Beavis PA, Haynes NM, Chow MT, Smyth MJ, Kershaw MH, Darcy PK.

Anti-PD-1 antibody therapy potently enhances the eradication of established tumors by gene-modified T cells.

Clin Cancer Res 2013; 19:5636-46.

Kloss CC, Lee J, Zhang A, Chen F, Melenhorst JJ, Lacey SF, Maus MV, Fraietta JA, Zhao Y, June CH.

Dominant-negative TGF- β receptor enhances PSMA-targeted human CAR T cell proliferation and augments prostate cancer eradication.

Mol Ther 2018; 26:1855-66.

Kobold S, Grassmann S, Chaloupka M, Lampert C, Wenk S, Kraus F, Rapp M, Düwell P, Zeng Y, Schmollinger JC, Schnurr M, Endres S, Rothenfußer S.

Impact of a new fusion receptor on PD-1-mediated immunosuppression in adoptive t cell therapy.

J Natl Cancer Inst 2015; 107.

Lesch S, Blumenberg V, Stoiber S, Gottschlich A, Ogonek J, Cadilha BL, Dantes Z, Rataj F, Dorman K, Lutz J, Karches CH, Heise C, Kurzay M, Larimer BM, Grassmann S, Rapp M, Nottebrock A, Kruger S, Tokarew N, Metzger P, Hoerth C, Benmebarek M-R, Dhoqina D, Grünmeier R, Seifert M, Oener A, Umut Ö, Joaquina S, Vimeux L, Tran T, Hank T, Baba T, Huynh D, Megens RTA, Janssen K-P, Jastroch M, Lamp D, Ruehland S, Di Pilato M, Pruessmann JN, Thomas M, Marr C, Ormanns S, Reischer A, Hristov M, Tartour E, Donnadieu E, Rothenfusser S, Düwell P, König LM, Schnurr M, Subklewe M, Liss AS, Halama N, Reichert M, Mempel TR, Endres S, Kobold S.

T cells armed with C-X-C chemokine receptor type 6 enhance adoptive cell therapy for pancreatic tumours.

Nat Biomed Eng 2021; 5:1246-60.

Li AM, Hucks GE, Dinofia AM, Seif AE, Teachey DT, Baniewicz D, Callahan C, Fasano C,

McBride B, Gonzalez V, Nazimuddin F, Porter DL, Lacey SF, June CH, Grupp SA, Maude SL.

Checkpoint inhibitors augment CD19-directed chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy in relapsed B-cell acute lymphoblastic leukemia.

Blood 2018; 132:556-.

Malvezzi M, Santucci C, Boffetta P, Collatuzzo G, Levi F, La Vecchia C, Negri E.

European cancer mortality predictions for the year 2023 with focus on lung cancer.

Ann Oncol 2023; 34:410-9.

Massagué J.

TGF- β in cancer.

Cell 2008; 134:215-30.

Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, Rives S, Boyer M, Bittencourt H, Bader P, Verneris MR, Stefanski HE, Myers GD, Qayed M, De Moerloose B, Hiramatsu H, Schlis K, Davis KL, Martin PL, Nemecek ER, Yanik GA, Peters C, Baruchel A, Boissel N, Mechinaud F, Balduzzi A, Krueger J, June CH, Levine BL, Wood P, Taran T, Leung M, Mueller KT, Zhang Y, Sen K, Lebwohl D, Pulsipher MA, Grupp SA.

Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia.

N Engl J Med 2018; 378:439-48.

McGowan E, Lin Q, Ma G, Yin H, Chen S, Lin Y.

PD-1 disrupted CAR-t cells in the treatment of solid tumors: Promises and challenges.

Biomed Pharmacother 2020; 121:109625.

Moon EK, Carpenito C, Sun J, Wang L-CS, Kapoor V, Predina J, Powell DJ, Jr., Riley JL, June CH, Albelda SM.

Expression of a functional CCR2 receptor enhances tumor localization and tumor eradication by retargeted human t cells expressing a mesothelin-specific chimeric antibody receptor.

Clin Cancer Res 2011; 17:4719-30.

Mougiakakos D, Krönke G, Völkl S, Kretschmann S, Aigner M, Kharboutli S, Böltz S, Manger B, Mackensen A, Schett G.

CD19-targeted CAR T cells in refractory systemic lupus erythematosus.

N Engl J Med 2021; 385:567-9.

Munshi NC, Anderson LD, Shah N, Madduri D, Berdeja J, Lonial S, Raje N, Lin Y, Siegel D, Oriol A, Moreau P, Yakoub-Agha I, Delforge M, Cavo M, Einsele H, Goldschmidt H, Weisel K, Rambaldi A, Reece D, Petrocca F, Massaro M, Connarn JN, Kaiser S, Patel P, Huang L, Campbell TB, Hege K, San-Miguel J.

Idecabtagene vicleucel in relapsed and refractory multiple myeloma.

N Engl J Med 2021; 384:705-16.

Nagarsheth N, Wicha MS, Zou W.

Chemokines in the cancer microenvironment and their relevance in cancer immunotherapy.

Nat Rev Immunol 2017; 17:559-72.

Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, Lekakis LJ, Miklos DB, Jacobson CA, Braunschweig I, Oluwole OO, Siddiqi T, Lin Y, Timmerman JM, Stiff PJ, Friedberg JW, Flinn IW, Goy A, Hill BT, Smith MR, Deol A, Farooq U, McSweeney P, Munoz J, Avivi I, Castro JE, Westin JR, Chavez JC, Ghobadi A, Komanduri KV, Levy R, Jacobsen ED, Witzig TE, Reagan P, Bot A, Rossi J, Navale L, Jiang Y, Aycock J, Elias M, Chang D, Wieszorek J, Go WY.

Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma.

N Engl J Med 2017; 377:2531-44.

Oda SK, Daman AW, Garcia NM, Wagener F, Schmitt TM, Tan X, Chapuis AG, Greenberg PD. A CD200r-CD28 fusion protein appropriates an inhibitory signal to enhance T-cell function and therapy of murine leukemia.

Blood 2017; 130:2410-9.

Pardoll DM.

The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy.
Nat Rev Cancer 2012; 12:252-64.

Parish CR.

Cancer immunotherapy: The past, the present and the future.
Immunol Cell Biol 2003; 81:106-13.

Prosser ME, Brown CE, Shami AF, Forman SJ, Jensen MC.

Tumor PD-L1 co-stimulates primary human CD8+ cytotoxic T cells modified to express a pd1: Cd28 chimeric receptor.
Mol Immunol 2012; 51:263-72.

Quail DF, Joyce JA.

Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis.
Nat Med 2013; 19:1423-37.

Rabinovich GA, Gabrilovich D, Sotomayor EM.

Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells.
Annu Rev Immunol 2007; 25:267-96.

Ramos-Casals M, Brahmer JR, Callahan MK, Flores-Chávez A, Keegan N, Khamashta MA, Lambotte O, Mariette X, Prat A, Suárez-Almazor ME.

Immune-related adverse events of checkpoint inhibitors.
Nat Rev Dis Primers 2020; 6:38.

Rapp M, Grassmann S, Chaloupka M, Layritz P, Kruger S, Ormanns S, Rataj F, Janssen K-P, Endres S, Anz D, Kobold S.

C-C chemokine receptor type-4 transduction of T cells enhances interaction with dendritic cells, tumor infiltration and therapeutic efficacy of adoptive T cell transfer.
Oncoimmunology 2016; 5:e1105428.

Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, Solomon D, Topalian SL, Toy ST, Simon P, Lotze MT, Yang JC, Seipp CA, Simpson C, Carter C, Bock S, Schwartzentruber D, Wei JP, White DE.
Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma.
N Engl J Med 1988; 319:1676-80.

Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS, Waller EK, Borchmann P, McGuirk JP, Jäger U, Jaglowski S, Andreadis C, Westin JR, Fleury I, Bachanova V, Foley SR, Ho PJ, Mielke S, Magenau JM, Holte H, Pantano S, Pacaud LB, Awasthi R, Chu J, Anak Ö, Salles G, Maziarz RT.

Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma.
N Engl J Med 2018; 380:45-56.

Sharpe AH, Pauken KE.

The diverse functions of the PD1 inhibitory pathway.
Nat Rev Immunol 2018; 18:153-67.

Sterner RC, Sterner RM.

CAR-T cell therapy: Current limitations and potential strategies.
Blood Cancer J 2021; 11:69.

Stoiber S, Cadilha BL, Benmebarek M-R, Lesch S, Endres S, Kobold S.
Limitations in the design of chimeric antigen receptors for cancer therapy.
Cells 2019; 8:472.

Tauriello DVF, Sancho E, Batlle E.
Overcoming TGF β -mediated immune evasion in cancer.
Nat Rev Cancer 2022; 22:25-44.

Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, Powderly JD, Carvajal RD, Sosman JA, Atkins MB, Leming PD, Spigel DR, Antonia SJ, Horn L, Drake CG, Pardoll DM, Chen L, Sharfman WH, Anders RA, Taube JM, McMiller TL, Xu H, Korman AJ, Jure-Kunkel M, Agrawal S, McDonald D, Kollia GD, Gupta A, Wigginton JM, Sznol M.
Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer.
N Engl J Med 2012; 366:2443-54.

Viola A, Luster AD.
'Chemokines and their receptors: Drug targets in immunity and inflammation.
Annu Rev Pharmacol Toxicol 2008; 48:171-97.

von Andrian UH, Mackay CR.
T-cell function and migration — two sides of the same coin.
N Engl J Med 2000; 343:1020-34.

Waldman AD, Fritz JM, Lenardo MJ.
A guide to cancer immunotherapy: From T cell basic science to clinical practice.
Nat Rev Immunol 2020; 20:651-68.

Wang M, Munoz J, Goy A, Locke FL, Jacobson CA, Hill BT, Timmerman JM, Holmes H, Jaglowski S, Flinn IW, McSweeney PA, Miklos DB, Pagel JM, Kersten M-J, Milpied N, Fung H, Topp MS, Houot R, Beitinjaneh A, Peng W, Zheng L, Rossi JM, Jain RK, Rao AV, Reagan PM.
KTE-X19 CAR T-cell therapy in relapsed or refractory mantle-cell lymphoma.
N Engl J Med 2020; 382:1331-42.

Zlotnik A, Yoshie O.
Chemokines: A new classification system and their role in immunity.
Immunity 2000; 12:121-7.

Danksagung

Zuallererst möchte ich meinem Betreuer, Bruno Cadilha, von Herzen danken. Seine unermüdliche und fortlaufende Unterstützung, fachliche Expertise und inspirierende Anleitung haben maßgeblich zu meiner persönlichen und beruflichen Laufbahn beigetragen, als Vorbild, Mentor und Freund.

Ein besonderer Dank gebührt auch meinem Doktorvater, Prof. Sebastian Kobold, sowie Prof. Stefan Endres. Ihre großzügige Bereitschaft, mich in der Abteilung für Klinische Pharmakologie zu fördern, ihre kontinuierliche Unterstützung, Betreuung und die wertvollen Anregungen haben mir nicht nur wertvolle Einblicke in die Forschung ermöglicht, sondern auch zu meiner klinischen und akademischen Weiterentwicklung beigetragen.

Meinen Freunden und Kommilitonen und den Kollegen in der Abteilung für Klinische Pharmakologie möchte ich für die wertvolle Hilfe und schöne Zeit in dieser Abteilung danken, denn ich denke sehr gerne an diese Jahre zurück.

Zu guter Letzt möchte ich meiner Familie, meinen Eltern Roland und Jutta und meinem Bruder Oskar, meinen tiefsten Dank aussprechen. Ihre Unterstützung und ihr Vertrauen haben mir in jeder Phase meines Weges Kraft gegeben.

Ein besonderer Dank gebührt Julia für ihr Verständnis und ihre bedingungslose Unterstützung, auch an den langen und anspruchsvollen Tagen der Forschung. Deine Liebe und deine Geduld mit mir sind für mich von unschätzbarem Wert.

Publikationsliste

1. Cadilha BL, Benmebarek MR, Dorman K, Oner A, **Lorenzini T**, Obeck H, Vanttinen M, Di Pilato M, Pruessmann JN, Stoiber S, Huynh D, Märkl F, Seifert M, Manske K, Suarez-Gosalvez J, Zeng Y, Lesch S, Karches CH, Heise C, Gottschlich A, Thomas M, Marr C, Zhang J, Pandey D, Feuchtinger T, Subklewe M, Mempel TR, Endres S, Kobold S.
Combined tumor-directed recruitment and protection from immune suppression enable CAR T cell efficacy in solid tumors.
Sci Adv 2021; 7:eabi5781.
2. Seifert M, Benmebarek MR, Briukhovetska D, Märkl F, Dörr J, Cadilha BL, Jobst J, Stock S, Andreu-Sanz D, **Lorenzini T**, Grünmeier R, Oner A, Obeck H, Majed L, Dhoqina D, Feinendegen M, Gottschlich A, Zhang J, Schindler U, Endres S, Kobold S.
Impact of the selective A_{2A}R and A_{2B}R dual antagonist AB928/etrumadenant on CAR T cell function.
Br J Cancer 2022; 127:2175–2185.
3. Xu T, Karschnia P, Cadilha BL, Dede S, Lorenz M, Seewaldt N, Nikolaishvili E, Müller K, Blobner J, Teske N, Herold JJ, Rejeski K, Langer S, Obeck H, **Lorenzini T**, Mulazzani M, Zhang W, Ishikawa-Ankerhold H, Buchholz VR, Subklewe M, Thon N, Straube A, Tonn JC, Kobold S, von Baumgarten L.
In vivo dynamics and anti-tumor effects of EpCAM-directed CAR T-cells against brain metastases from lung cancer.
Oncolimmunology 2023; 12:2163781.
4. Gottschlich A, Thomas M, Grünmeier R, Lesch S, Rohrbacher L, Igl V, Briukhovetska D, Benmebarek MR, Vick B, Dede S, Müller K, Xu T, Dhoqina D, Märkl F, Robinson S, Sendelhofert A, Schulz H, Umut Ö, Kavaka V, Tsiverioti CA, Carlini E, Nandi S, Strzalkowski T, **Lorenzini T**, Stock S, Müller PJ, Dörr J, Seifert M, Cadilha BL, Brabenec R, Röder N, Rataj F, Nüesch M, Modemann F, Wellbrock J, Fiedler W, Kellner C, Beltrán E, Herold T, Paquet D, Jeremias I, von Baumgarten L, Endres S, Subklewe M, Marr C, Kobold S.
Single-cell transcriptomic atlas-guided development of CAR-T cells for the treatment of acute myeloid leukemia.
Nat Biotechnol 2023; 41:1618–1632.

5. Märkl F, Benmebarek MR, Keyl J, Cadilha BL, Geiger M, Karches C, Obeck H, Schwerdtfeger M, Michaelides S, Briukhovetska D, Stock S, Jobst J, Müller PJ, Majed L, Seifert M, Klüver AK, **Lorenzini T**, Grünmeier R, Thomas M, Gottschlich A, Klaus R, Marr C, von Bergwelt-Baildon M, Rothenfusser S, Levesque MP, Heppt MV, Endres S, Klein C, Kobold S.
Bispecific antibodies redirect synthetic agonistic receptor modified T cells against melanoma.
J Immunother Cancer 2023; 11:e006436.

6. **Lorenzini T***, Cadilha BL*, Obeck H, Benmebarek MR, Märkl F, Michaelides S, Strzalkowski T, Briukhovetska D, Müller PJ, Nandi S, Winter P, Majed L, Grünmeier R, Seifert M, Rausch S, Feuchtinger T, Endres S, Kobold S. (2023).
Rational design of PD-1-CD28 immunostimulatory fusion proteins for CAR T cell therapy.
Br J Cancer 2023; 129:696–705.

* geteilte Erstautorenschaft