

Abschlussbericht	
ZE: Helmholtz-Zentrum München (HMGU)	Förderkennzeichen: 03VP00560
Vorhabenbezeichnung: Klinische Validierung eines patentierten Carboanhydrase XII-inhibierenden monoklonalen Antikörpers - VIP_6A10_m	
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2016 - 30.09.2021	

I.1 Aufgabenstellung

Das hier geförderte Projekt ist Teil eines Gesamtprojekts, dessen Ziel die Durchführung einer klinischen Studie an Glioblastompatienten mit einem selbst entwickelten Antikörperfragment (ein ‚Fab-Fragment‘) war. Für die Finanzierung dieses Vorhabens wurden zeitlich parallel Anträge beim Helmholtz-Validierungsfonds (HVF) und bei VIP+ (dieses Teilprojekt) gestellt.

Während die Zuwendung des HVF für die GMP-gerechte Herstellung des Prüfpräparats (also des Medikaments, das in der klinischen Studie verwendet wird) vorgesehen war, dienten die genehmigten Gelder dieses Teilprojekts hauptsächlich präklinischen Vorarbeiten (wie Toxizitätsstudien, Etablierung von Freigabekriterien, Arbeiten zur Indikationserweiterung) und der Planung (z.B. Studienprotokoll), Organisation (Identifizierung der Prüfzentren, Anträge an verschiedene Behörden) und Durchführung (gemeinsame Planung mit der Studienzentrale am Uniklinikum Münster) der klinischen Phase I-Studie.

So sollten im Rahmen der beantragten Projektlaufzeit alle Voraussetzungen für die Phase I-Studie geschaffen und die Studie selbst durchgeführt werden.

I.2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Voraussetzung für die Durchführung waren vielversprechende Vorarbeiten einerseits, sowie hauptsächlich eine Gruppe an engagierten Wissenschaftlern und Medizinern, die in der Entwicklung des Produkts eine Möglichkeit gesehen haben, die Behandlung von Glioblastompatienten zu verbessern. Wichtig für die Durchführung war ebenso die große Erfahrung der Beteiligten in der präklinischen Entwicklung, der Nuklearmedizin und teilweise auch der Umgang mit Behörden.

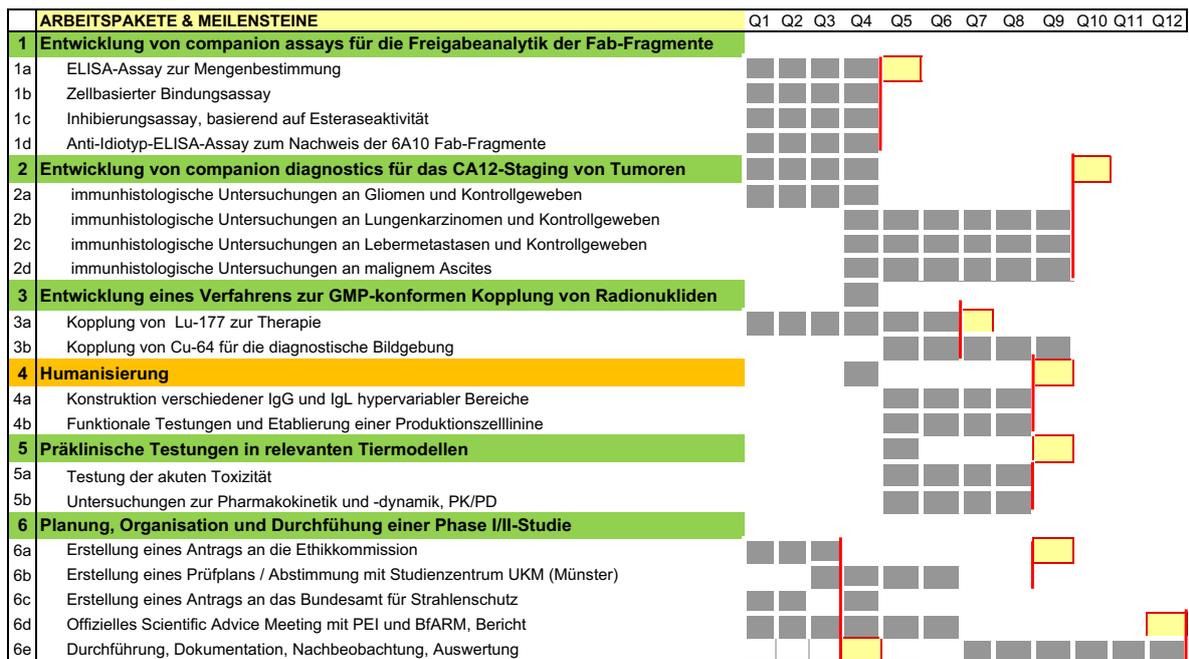
I.3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Retrospektiv lag dem Vorhaben eine ehrgeizige zeitliche Planung zugrunde, die aus verschiedenen Gründen nicht eingehalten werden konnte:

1. haben die Antragsteller den zeitlichen Aufwand für die Planung und Interaktion

mit Behörden unterschätzt,

2. Haben die Beteiligten mehrfach feststellen müssen, dass die Interaktion mit Behörden wesentlich mehr Zeit in Anspruch nimmt als geplant. I
3. Hat die Corona-Epidemie zu nicht vorhersehbaren Verzögerungen geführt bei verschiedenen Arbeitspaketen geführt hat. So waren unsere Labors für viele Monate nicht oder nur eingeschränkt nutzbar.



Zusammen haben diese Punkte zu signifikanten zeitlichen Verzögerungen geführt. Dennoch konnte das Projekt letztendlich dem Arbeitsplan entsprechend und erfolgreich abgeschlossen werden.

I.4 Wissenschaftlicher Stand, an den angeknüpft wurde

Glioblastoma multiforme (GBM) ist eine unheilbare Erkrankung. Die Patienten sterben trotz derzeit bestmöglicher Therapie innerhalb weniger Monate an Lokalrezidiven in unmittelbarer Nähe des Primärtumors. Diese Rezidive entstehen aus Tumorzellen, die in das umliegende gesunde Gehirngewebe eingewandert waren und sich operativ nicht entfernen ließen. Die klassischen adjuvanten Therapien – Bestrahlung und Chemotherapie – sind gegen diese Zellen nur bedingt wirksam.

Die lokoregionäre, intracavitäre Radioimmuntherapie (RIT) ist, im Gegensatz zur systemischen RIT, ein therapeutischer Ansatz, der das Auftreten solcher Lokalrezidive erwiesenermaßen verzögern kann. Bei der intracavitären RIT kombiniert man die Spezifität

eines Antikörpers mit der unmittelbar zytotoxischen Wirkung eines Radionuklids und injiziert dieses Konjugat direkt in die Tumor-Resektionshöhle (=Cavita). Von dort wandert das Konjugat in das umgebende Gewebe und bindet spezifisch an Tumorzellen.

Obwohl die intracavitäre RIT ihre therapeutische Effizienz belegt hat, ist ihr klinischer Einsatz durch den Mangel an geeigneten Antikörpern und spezifischen Zielmolekülen stark eingeschränkt. Unser Antikörper 6A10 kann diese Lücke füllen: er erkennt und inhibiert spezifisch die humane Carboanhydrase XII (CA12), die im Zentralen Nervensystem nur auf der Oberfläche maligner Gliomzellen, nicht aber auf gesunden Gehirnzellen, vorhanden. In einem innovativen Ansatz wollten wir daher die therapeutische Effizienz und Sicherheit von 6A10-Fab-Fragmenten¹, die mit dem Beta-Strahler Lutetium-177 (Lu-177) konjugiert sind, im Rahmen einer klinischen Phase I/II-Studie validieren. Hierfür hatten wir ein kompetentes Netzwerk an Wissenschaftlern, Neurochirurgen und Nuklearmedizinern aufgebaut, die erst kürzlich die Machbarkeit, die Sicherheit und den therapeutischen Effekt der intracavitären RIT belegt haben. Gleichzeitig gibt es für die Behandlung von GBMs seit vielen Jahren keine signifikanten Neuentwicklungen.

Zudem bestand zu Beginn des Projekts ein Schutzrecht (WO2011138279A1) für den 6A10-Antikörper.

Zusammengefasst herrschten günstige Voraussetzungen für die Entwicklung einer innovativen Therapie.

I.5 Arbeiten, die im Rahmen von Kooperationen durchgeführt wurden

Antragsgemäß wurden folgende Arbeitspakete in Kooperation durchgeführt

2a, mit Herrn Prof. Jürgen Schlegel (Neuropathologie der TU München)

2d, mit Frau Prof. Doris Mayr (Pathologie der LMU München)

3, mit dem Dr. Franz Gildehaus (Inst. für Nuklearmedizin der LMU München)

¹ Fab-Fragmente sind die Teile eines Antikörpers, die seine Spezifität determinieren und über die ein Antikörper z.B. an Tumorzellen bindet. Sie sind deutlich kleiner und weniger immunogen als gesamte Antikörpermoleküle.

II Eingehende Darstellung

II.1 Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

Validierungsziele:

1. Entwicklung von *Companion Assays* und *Diagnostics*, Durchführung toxikologischer Studien und Studien zur Pharmakokinetik und -dynamik. Dieses Validierungsziel wurde erreicht

2. Organisation und Durchführung einer klinischen Phase I/II-Dosisfindungsstudie: Dieses Validierungsziel wurde insofern nicht erreicht, als ein Verwertungsvertrag mit einer Pharmafirma bereits vor Beginn der klinischen Studie geschlossen werden konnte, so dass Mittel aus der Zuwendung nicht benötigt wurden. Mittlerweile liegt eine Genehmigung zur Durchführung der klinischen Studie vor.

3. F&E-Arbeiten zur späteren Indikationserweiterung (Therapie und Diagnostik): Dieses Validierungsziel wurde weitgehend erreicht.

Mögliche Folgen wurde im Rahmen der Investigator's Brochure, des Antrags an das Bundesamt für Strahlenschutz Rechnung getragen. Alle regulatorischen Fragen wurden mit dem PEI und dem BfArM geklärt. Die klinische Studie wird, wie geplant, von der Studienzentrale des Uniklinikums Münster organisiert und durchgeführt.

Dem Projekt lag das folgende Arbeitsprogramm zugrunde:

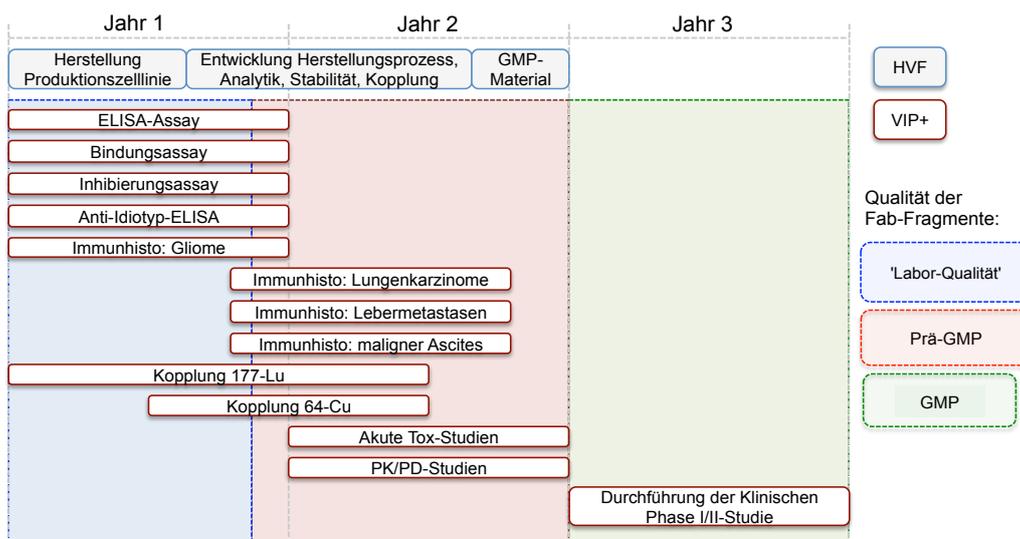


Abbildung 1: Gemeinsames Arbeitsprogramm für VIP+ und HVF innerhalb der geplanten 36 Monate.

Zu AP1:

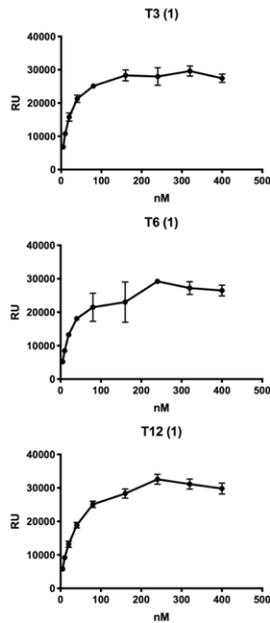
Im Rahmen des AP1 wurden erfolgreich entwickelt:

1. Ein CA12 ELISA und ein Anti-Idiotyp-ELISA zum Nachweis des 6A10 Fab: Wird u.a. verwendet zur Quantifizierung bei der Herstellung

Im Rahmen dieses Arbeitspakets wurde ein Antikörper entwickelt, der spezifisch den 6A10-Antikörper und das Fab-Fragment erkennt (= ein sogenannter Anti-Idiotyp-AK). Unter Verwendung dieses Antikörpers wurde ein Sandwich ELISA-Assay entwickelt, der die Quantifizierung des Fab-Fragments erlaubt. Bei diesem Assay wird zunächst eine geeignete 96-Lochplatte mit CA12 beschichtet und anschließend mit verschiedenen Konzentrationen des Fab-Fragments inkubiert. Der Nachweis der Bindung erfolgt mit dem Anti-Idiotyp-AK, gefolgt von einer Farbreaktion. Dieses Assay wird u.a. vom Hersteller des Fab-Fragments zur internen Qualitätskontrolle genutzt.

2. Ein zellbasierter Bindungsassay zur Verwendung in Stabilitätstests. Wird u.a. verwendet in der durchzuführenden Stabilitätsstudie, welche die Dauer der klinischen Verwendbarkeit des Fab-Fragments definiert.

Ein wichtiger Parameter einer Prüfsubstanz und eines Medikaments ist die Stabilität. Im Rahmen dieses Vorhabens wurde die Stabilität des GMP-gerecht hergestellten Fab-Fragments alle drei Monate bestimmt. Hierzu wurde ein Assay etabliert, der auf der Bindung des Fab-Fragments an CA12-positive A549-Zellen beruht. Das Maß der Bindung, das direkt mit der Stabilität korreliert, kann dann durchflusszytometrisch quantifiziert werden (Abbildung 2). Der Assay wurde schließlich vom PEI als geeignete Methode zur Stabilitätsbestimmung akzeptiert.



17,6 nM (\pm 1,39 nM)

24,6 nM (\pm 3,77 nM)

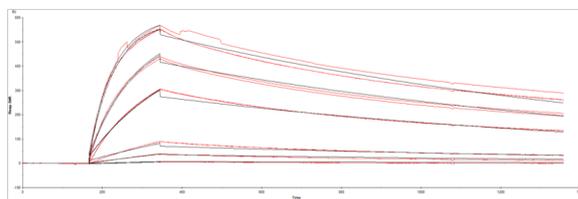
29,1 nM (\pm 2,27 nM)

Abbildung 2: Exemplarische Darstellung der durchflusszytometrischen Bestimmung der Stabilität des Fab-Fragments 3, 6, und 12 Monate nach Herstellung.

- Ein Verfahren zur Messung der CA12-Aktivität. Wird u.a. verwendet zur qualitativen Messung des 6A10 Fab

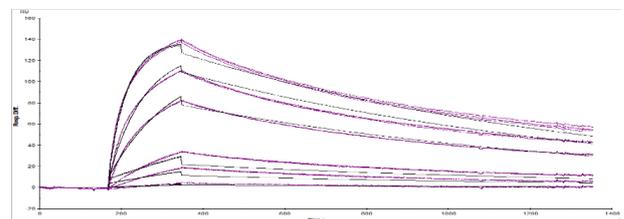
Hier konnten wir feststellen, dass das Fab-Fragment des 6A10 Antikörpers und der 6A10 Antikörper selbst zwar die humane CA12 und das Enzym aus *Macaca mulata* binden, aber das 6A10-Fab nur die humane CA12 auch blockieren (Abbildung 3). Diese Untersuchungen wurden u.a. durchgeführt, ob *M. mulata* ein relevantes Tiermodell für die präklinische Toxizitätsstudien darstellt. Dies kann aufgrund dieses Ergebnisses verneint werden. Es diene uns u.a. als Argumentation in einer Diskussion mit dem PEI über die Notwendigkeit und den Sinn dieser Art von Versuchen an nichthumanen Primaten.

Analyte conc = 2000 nM, 1000 nM, 500 nM, 100 nM, 50 nM, 10 nM



human

KD = 98 nM



macaca

KD = 89 nM

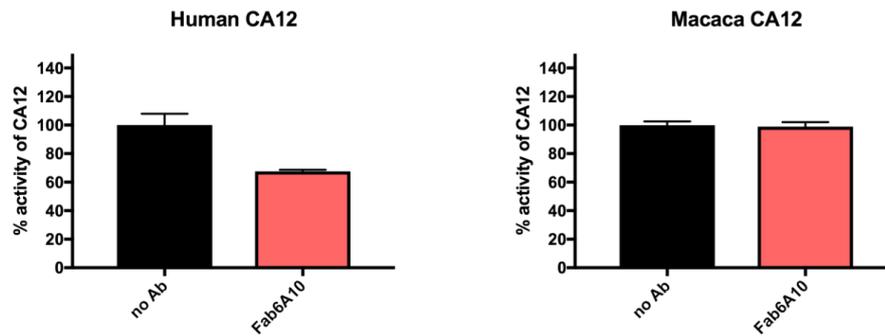


Abbildung 3: Die Bindung des Fab-Fragments an humane CA12 und CA12 von *M. mulata* (unten) wurden gemessen (oben). Hierbei wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt. Fab610 hemmt die Aktivität der humanen CA12, nicht aber die von *M. mulata* (unten).

- Ein immunhistochemisches Verfahren zum Nachweis der CA12 auf GBM. Wird u.a. verwendet als Ein- bzw. Ausschlusskriterium für die klinische Studie.

Als Vorbereitung auf die klinische Phase I-Studie wurde in Kooperation mit Prof. J. Schlegel vom Pathologischen Institut der TU-München die CA12-Expression auf einer Reihe an primären Glioblastomen und umgebenden Gewebe untersucht. Für diese Arbeiten wurde ein Unterauftrag geschlossen. Hierbei zeigte sich, dass praktisch alle untersuchten Gliome positiv, das umgebende normale Gewebe aber negativ ist (Abbildung 4). Diese Ergebnisse belegten die Tumorspezifität des Fab und waren wichtig für die Abschätzung potentieller Nebenwirkungen.

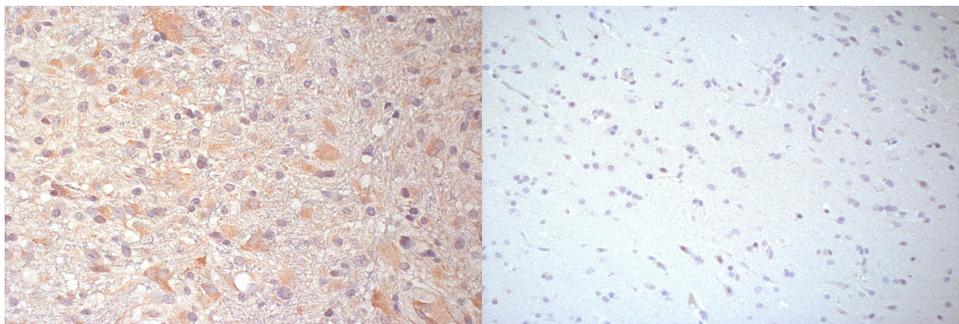


Abbildung 4: CA12-Färbung (braun) eines GBM (links) und von normalem Gehirn (rechts).

Zu AP2:

Im Rahmen des AP2 wurden fast alle Arbeit wie beantragt durchgeführt. Nachdem in einer ersten Serie an Experimenten in Lebertumoren und -metastasen keine CA12-Expression feststellbar war, konzentrierten wir uns in der Folge auf Untersuchungen des Ovarialkarzinoms, für welches nach wie vor ein großer diagnostischer und therapeutischer Bedarf an neuen Verfahren und Therapien besteht. In einer wissenschaftlichen Kooperation mit den Pathologischen Instituten der Technischen Universität München

und der Universität München wurden über 400 Primärtumore gefärbt und pathologisch ausgewertet (Abbildung 5). Bei diesen Arbeiten ergab sich eine Korrelation zwischen CA12-Expression und dem Differenzierungsgrad der Karzinome. Interessanterweise zeigte sich auch eine Korrelation zwischen malignen infiltrierenden Karzinomen und den sog. Borderline-Tumoren, bei denen die Expression deutlich niedriger war. Eine Publikation zu dieser Studie wurde kürzlich eingereicht und befindet sich derzeit in Revision.

Die Arbeiten zeigten, dass generell ein hoher Prozentsatz an Tumoren CA12 exprimiert, weshalb sich der 6A10 Antikörper prinzipiell für die adjuvante Therapie eignen könnte.

Es besteht weiterhin die verwertungsoffene Möglichkeit einer Erweiterung der Indikationen, so dass eine zukünftige Verwendung bei diesen Entitäten möglich scheint.

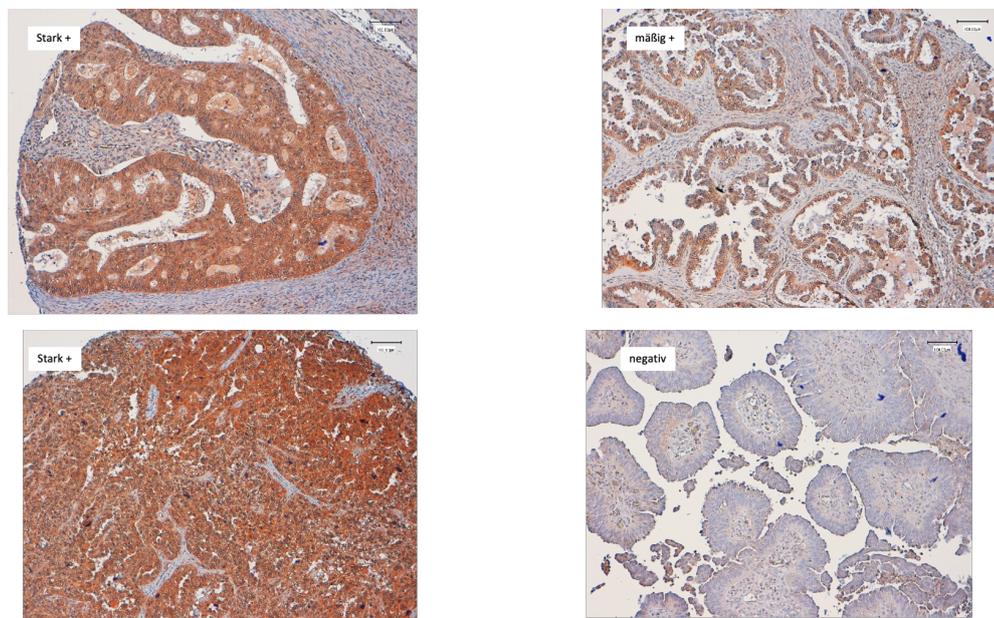


Abbildung 5: Beispiele für Ovarialkarzinome mit unterschiedlich starker Expression der CA12. Kooperation mit Frau Prof. Mayr vom Path. Inst. der Universität München.

Gleichermaßen untersuchten wir Tumorzellen, die wir aus dem malignen Ascites von Patientinnen mit Ovarialkarzinomen isoliert hatten. Auch hier zeigte sich, dass die CA12 auf der Mehrzahl der Fälle stark exprimiert wurde (Abbildung 6)

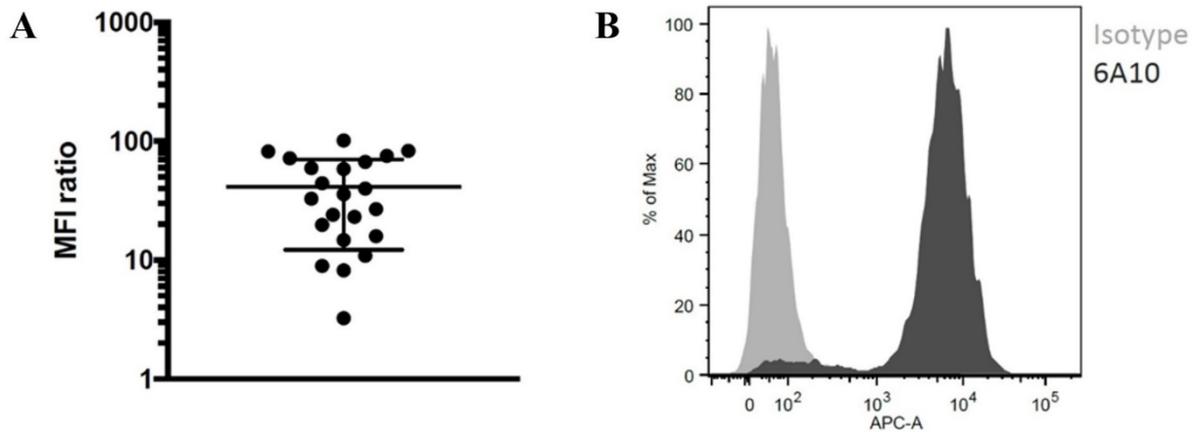


Abbildung 6: Primäre Tumorzellen aus Aszites exprimieren CA12.

Neben Ovarialkarzinomen führten wir auch erste Untersuchungen an Lungenkarzinomen durch. Auch hier zeigte sich, dass viele dieser Tumoren CA12-positiv sind, während normales Lungengewebe nur eine schwache Expression aufweist. Insgesamt konnten diese Färbungen an Lungengeweben aufgrund der Corona-Pandemie nicht in geplantem Umfang durchgeführt werden.

Zu AP3:

3a: Im Rahmen einer wissenschaftlichen Kooperation mit der Klinik für Nuklearmedizin der Universität München wurde ein Protokoll für die Markierung des Fab 6A10 mit ¹⁷⁷Lutetium etabliert, bei dem Lutetium über den Chelator DTPA an das Fab gekoppelt wird. Dafür mussten zunächst sämtliche experimentellen Bedingungen und Durchführungen definiert werden. In einer ersten Serie an Versuchen untersuchten wir, ob DTPA einen Einfluss auf die biologischen Eigenschaften des Fab hat (was, wie in Abbildung 7 gezeigt, glücklicherweise nicht der Fall war). Auch musste das Verhältnis von Fab-Fragment zu DTPA bestimmt werden, um einerseits eine möglichst effiziente Kopplung von Lutetium zu gewährleisten, andererseits aber die Bindungseigenschaften des Fab-Fragments nicht zu verändern.

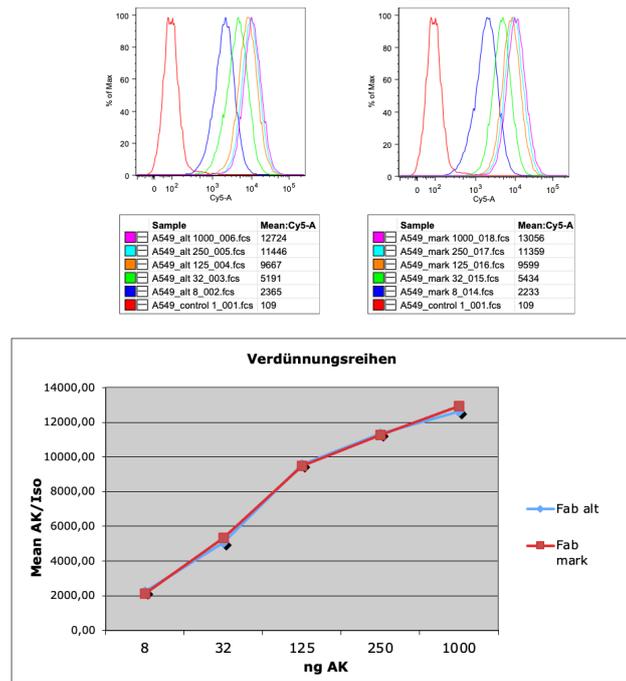


Abbildung 7: Vergleich der Bindung von DTPA-markiertem und markiertem Fab-Fragment. In der Durchflusszytometrie ist kein Unterschied erkennbar.

Als nächster Schritt wurde Lutetium-177 markiertes Fab-Fragment mit unmarkiertem Fab verglichen. Auch hier zeigte sich kein Unterschied in den Bindungseigenschaften (Abbildung 8). Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Markierung keine negativen Auswirkungen besitzt.

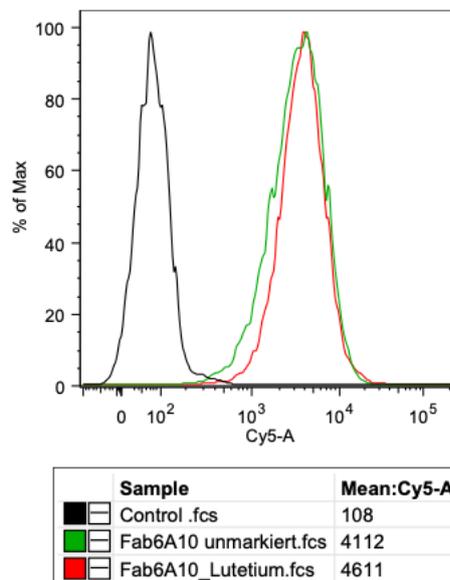


Abbildung 8: Unmarkiertes und Lutetium-markiertes Fab besitzen identische Bindungseigenschaften. Gemessen wurde die Bindung an CA12-positive A549-Zellen.

Diese Ergebnisse und weitere Daten zur Biodistribution und Stabilität führten letztendlich

zur Formulierung einer Herstellungsprotokolls für die Lutetium-Markierung (Abbildung 9). Weitere Information sind dem Manuskript (Fiedler et al., 2018a) zu entnehmen.

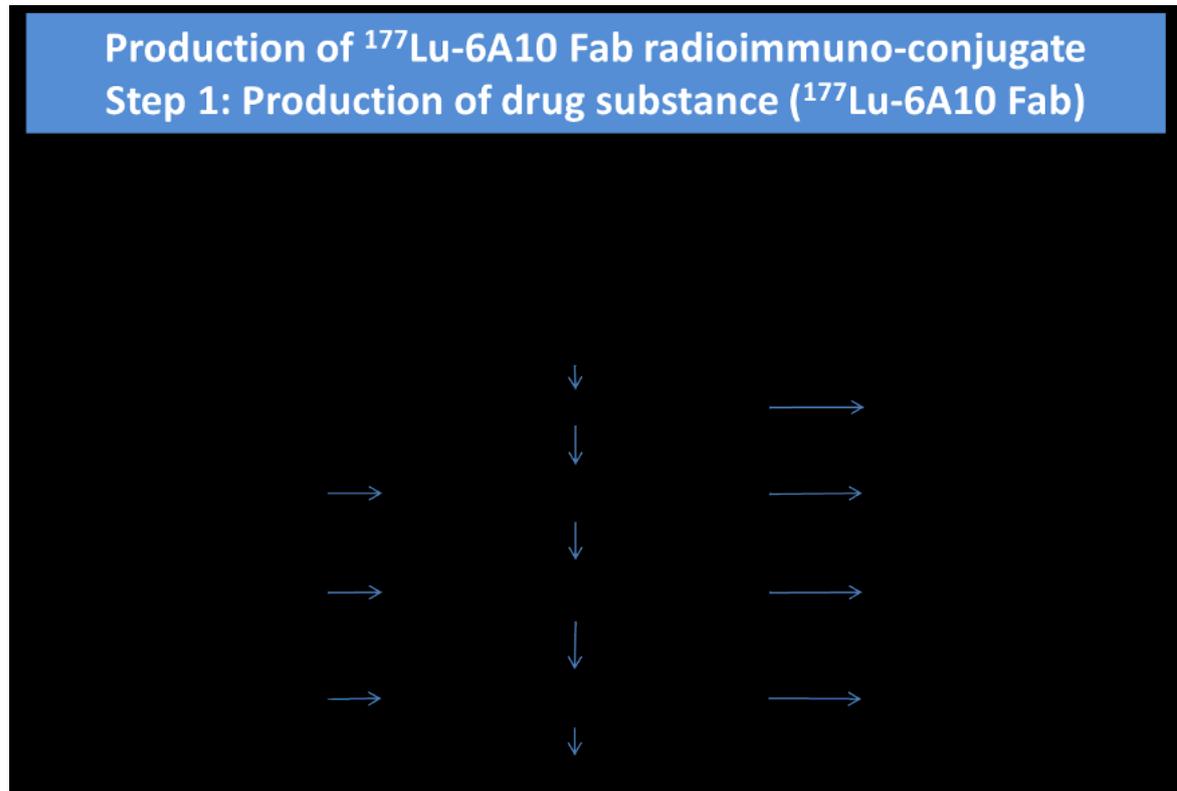


Abbildung 9 : Ablauf der Produktion von Lutetium-177-markiertem 6A10-Fab

3b: Die Arbeiten zur Markierung des 6A10-Fab mit ^{64}Cu zu bildgebenden Zwecken wurden begonnen (Abbildung 10) und ein Zwischenergebnis publiziert (Fiedler et al., 2018b), die Arbeiten konnten aber aufgrund der Corona-Situation nicht weitergeführt und abgeschlossen werden. Eine Fortführung nach Ende der pandemischen Lage kann derzeit aufgrund der angespannten personellen Lage am Institut für Nuklearmedizin und der Tatsache, dass die Produktion von ^{64}Cu dort derzeit keine primäre Rolle spielt, nicht versprochen werden.

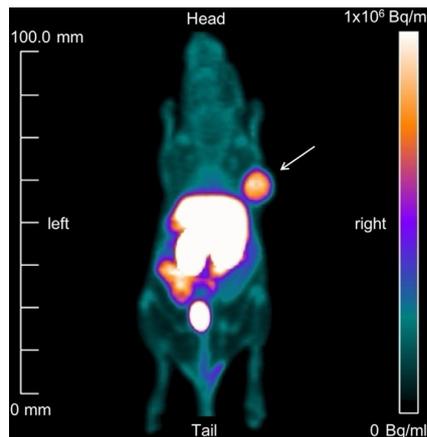


Abbildung 10: PET-Aufnahme eines humanen Tumors (Pfeil) mit ^{64}Cu -markiertem Fab-6A10.

Zu AP4:

Die Humanisierung des 6A10-Antikörpers wurde zu Beginn der Projektlaufzeit begonnen und 2020 abgeschlossen. Hierbei wurden verschiedene Varianten des Antikörpers hergestellt und der vielversprechendste Kandidat aufgrund von Affinität und Stabilität ausgewählt (Abbildung 11 und Abbildung 12).

Die Auswahl der Varianten erfolgte unter Verwendung der Tools auf www.abysis.com. Die Synthes der vorgeschlagenen Kandidaten wurden bei der Firma Genscript in Auftrag gegeben. Insgesamt wurden 7 Ig schwere Ketten und 4 Ig leichte Ketten synthetisiert. Dies ergibt 28 mögliche Kombinationen von schwerer und leichter Kette. HEK293-Zellen wurden mit zwei Expressionsplasmide ko-transfiziert (jeweils eines, das für eine schwere Kette kodiert, und eines für die leichte Kette). Zwei Tage später wurde der Überstand der transfizierten Zellen auf Bindung an A549-Zellen untersucht. Hierbei zeigte sich, dass ein Kandidat weitgehend identische Bindungseigenschaften (Affinität) wie der ursprüngliche 6A10 Antikörper besaß. Die beiden Expressionsplasmide, die für diesen humanisierten AK-Kandidat kodierten, wurden in CHO-Zellen transfiziert, diese anschließend selektiert, amplifiziert und schließlich kryopräserviert, nachdem sie auf AK-Produktion untersucht wurde.

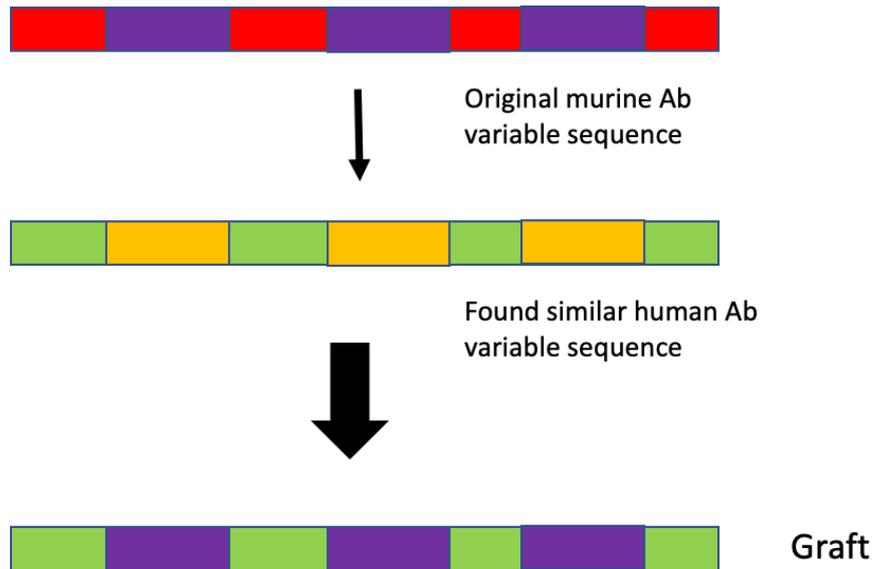


Abbildung 11: Prinzip der Humanisierung eines Antikörpers per ‚CDR Grafting‘. Die Bereiche eines Antikörpers, die seine Spezifität bestimmen (complementary determining regions; CDR), werden von einem Mausantikörper (oben, CDRs=violett) in einen humanen Antikörper (Mitte; CDRs=gelb) ‚transplantiert‘. So entsteht ein humanisierter Antikörper (unten), bei dem alle Bestandteile mit Ausnahme der CDRs menschlichen Ursprungs sind. Humanisierte Antikörper haben in vivo wesentlich weniger Nebenwirkungen als z.B. Maus-Antikörper.

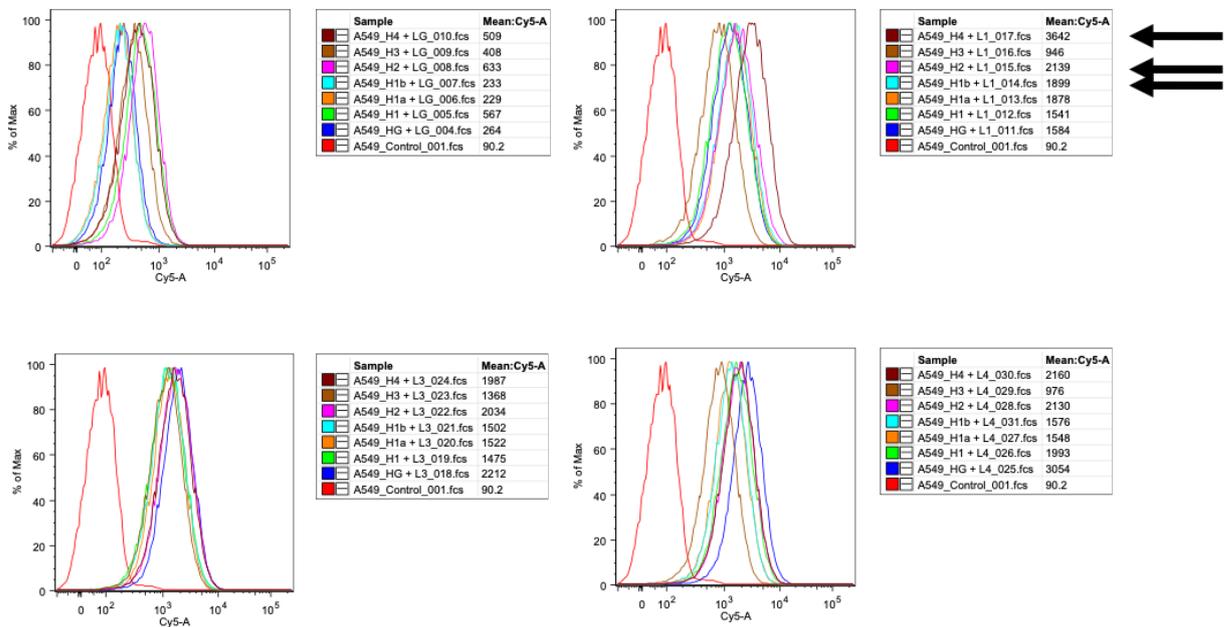


Abbildung 12: Der Vergleich der Bindung verschiedener Kandidaten führte zur Identifizierung des besten humanisierten Antikörpers (rechts oben). Dieser wurde anschließend für die Herstellung einer Produktionszelllinie, basierend auch CHO-Zellen, verwendet. Diese Zelllinie wurde eingefroren und kann jederzeit für die Herstellung großer Mengen des humanisierten Antikörpers verwendet werden

Ein Produktionszelllinie, basierend auf CHO-Zellen, wurde hergestellt und kryokonserviert. Sie kann für künftige GMP-konforme Herstellung des Antikörpers verwendet werden. Damit wurde AP4 erfolgreich bearbeitet.

Ein im Arbeitsprogramm vorgeschlagenes Tiermodell hat sich aufgrund der Corona-Situation leider verzögert und wird derzeit mit dem Institut für Nuklearmedizin der TU geplant.

Zu AP5:

Das Arbeitspaket 5 wurde bei der Firma VivoScience in 48599 Gronau in Auftrag gegeben und wurde 2018 erfolgreich beendet (Study Report H17-001-DRF). In Abstimmung mit dem PEI wurde dabei Fab-Fragment, an das DTPA gekoppelt war, Ratten intrakranial verabreicht, wobei die höchste Dosis diejenige, die für Patienten errechnet wurde, ob ca. den Faktor 50 überstieg. Eine Toxizität des 6A10 Fab konnte in diesem Tiermodell selbst bei höchster Dosierung nicht beobachtet werden. Die durchgeführten Experimente zur Bestimmung der akuten Toxizität sind wichtiger Bestandteil der Dokumente zur Beantragung der klinischen Phase I-Studie.

Zu AP6

Die Arbeitspakete 6a-d wurden erfolgreich beendet. Im Detail bedeutet dies, dass im Mai 2017 ein Scientific Advice Meeting mit Vertretern des Paul Ehrlich-Instituts (PEI) und dem BfArM durchgeführt wurde, welches maßgebliche Auswirkungen auf die Planung der präklinischen Untersuchungen und das Konzept der klinischen Studie hatte.

Die für die Zulassung der Studie benötigten Dokumente (Studienprotokoll, Prüfplan, Investigator's Brochure, IMPD, Prüfplan, Aufklärungsbogen etc.) wurden angefertigt, alle nötigen Anträge (z.B. an das Bundesamt für Strahlenschutz und Ethikkommissionen) wurden eingereicht und sind mittlerweile genehmigt.

6e: Die Verhandlungen mit der Firma ITM über eine Kostenübernahme und die Vorbereitungen auf die Durchführung der klinischen Phase I-Studie wurden erfolgreich fortgeführt, ein Options- und Lizenzvertrag konnte am 22.12.21 geschlossen werden. In Abstimmung mit dem Projektträger erachten wir daher das primäre Validierungsziel als erreicht. Die genehmigte Fördersumme wurde auf unseren Antrag hin um EUR 561.057,55 gekürzt.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass nahezu alle Arbeitspakete erfolgreich bearbeitet werden konnten. Das Förderziel wurde, wenn auch zeitlich verzögert, erreicht.

II.2 Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Materialkosten:	EUR 136.597,96
Personalkosten:	EUR 421.024,98
Reisekosten:	EUR 2.479,76
Sonstige unmittelbaren Vorhabenskosten:	EUR 182.314,93
Kosten innerbetrieblicher Leistungen:	EUR 20.488,34
Verwaltungskosten:	EUR 89.107,85
Gesamtkosten des Vorhabens:	EUR 852.013,82

II.3 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeiten

Alle geleisteten Projektarbeiten waren angemessen und für das Erreichen des Förderziels notwendig.

Der Umfang der beantragten Fördermittel war nötig und angemessen und damit für die Durchführung des Arbeitsprogramms essentiell.

II.4 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

- *Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont) - z. B. auch funktionale/wirtschaftliche Vorteile gegenüber Konkurrenzlösungen, Nutzen für verschiedene Anwendergruppen/-industrien am Standort Deutschland, Umsetzungs- und Transferstrategien (Angaben, soweit die Art des Vorhabens dies zulässt).*

Wir sehen nach wie vor sehr gute wirtschaftliche Erfolgsaussichten. ITM hat mittlerweile einen substantiellen finanziellen Beitrag zu dem Projekt beigetragen, so dass wir davon ausgehen, dass es in Kürze zu einem Vertragsabschluss und damit zur weiteren klinischen Entwicklung des Projekts kommen wird.

- *Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont) - u. a. wie die geplanten Ergebnisse in anderer Weise (z. B. für öffentliche Aufgaben, Datenbanken, Netzwerke, Transferstellen etc.) genutzt werden können. Dabei ist auch eine etwaige Zusammenarbeit mit anderen Einrichtungen, Firmen, Netzwerken, Forschungsstellen u. a. einzubeziehen.*

Insbesondere besteht die Möglichkeit, die im Rahmen des Projekts erworbenen Kenntnisse, beispielsweise zur GMP-Produktion und zur Planung und Durchführung klinischer Studien, inklusive regulatorischer Aspekte, in weitere wissenschaftliche Projekte einzubringen. So werden in meiner Arbeitsgruppe weiterhin neue Antikörper mit prinzipiellem

therapeutischem Potential entwickelt, die zu einem späteren Zeitpunkt, bei Vorhandensein der finanziellen Möglichkeiten, ebenfalls klinisch getestet werden sollen.

Die (die guten und schlechten) Erfahrungen, die wir im Rahmen des Projekts gemacht haben, machen uns zu einem gefragten Ansprechpartner innerhalb und außerhalb des HMGU für Fragen, die die präklinische Entwicklung von Antikörpern betreffen.

- *Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit für eine mögliche notwendige nächste Phase bzw. die nächsten innovatorischen Schritte zur erfolgreichen Umsetzung der FE-Ergebnisse.*

Die Fähigkeit für einen wissenschaftlichen und wirtschaftlichen Anschluss besteht. Bei positiven klinischen Ergebnissen, die im Rahmen des Projekts erzielt werden, gibt es guten Chancen einer wissenschaftlichen (mit Hilfe weiterer Drittmittel) und/oder wirtschaftlichen (durch Identifizierung eines Kooperationspartners) Fortführung der klinischen Validierung bis hin zur Zulassung.

Neben den Planungen für die klinische Phase-I-Studie zur Radioimmuntherapie des Glioblastoms, sieht das Arbeitsprogramm wichtige Vorarbeiten für weitere klinische Einsatzmöglichkeiten des Antikörpers zur Bildgebung und Therapie weiterer Tumorerkrankungen vor. Wir sehen insbesondere die Möglichkeit des Einsatzes des GMP-konform hergestellten Fab-Fragments zur Bildgebung bzw. Erkennung von Tumorerkrankungen. Insbesondere sehen wir hier eine wissenschaftliche Anschlussmöglichkeit in Zusammenarbeit mit der Klinik für Nuklearmedizin der LMU, welche ein separates Forschungsprojekt zur Herstellung von ⁶⁴Kupfer betreibt. Hierzu haben wir bereits eine Kooperation etabliert. Bei positiven Ergebnissen sehen wir auch die Möglichkeit einer Übernahme des Projekts durch einen industriellen Partner.

Des Weiteren wurde wir noch bis September 2021 (Projektende) an den Möglichkeiten einer Indikationserweiterung, d.h. dem Einsatz des Antikörpers für andere Arten von Krebserkrankungen gearbeitet.

II.5 Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf dem Gebiet durch andere Stellen

Bekannt geworden ist ein Vorhaben, beim dem eine bestimmte Art von Immunzellen zu therapeutischen Zwecken verwendet wurde. Ein neues Therapieverfahren, welches auf der Verwendung eines spezifischen Antikörpers beruht, ist mir nicht bekannt.

II.6 Erfolgte und geplante Veröffentlichungen

von Neubeck, B., Gondi, G., Riganti, C., Pan, C., Parra Damas, A., Scherb, H., Ertürk, A., and Zeidler, R. (2018). An inhibitory antibody targeting carbonic anhydrase XII abrogates chemoresistance and significantly reduces lung metastases in an orthotopic breast cancer model in vivo. *Int J Cancer* 143, 2065-2075.

Fiedler, L., Kellner, M., Gosewisch, A., Oos, R., Böning, G., Lindner, S., Albert, N., Bartenstein, P., Reulen, H. J., Zeidler, R., and Gildehaus, F. J. (2018a). Evaluation of ¹⁷⁷Lu-CHX-A"-DTPA-6A10 Fab as a radioimmunotherapy agent targeting carbonic anhydrase XII. *Nucl Med Biol* 60, 55-62.

Fiedler, L., Kellner, M., Oos, R., Böning, G., Ziegler, S., Bartenstein, P., Zeidler, R., Gildehaus, F. J., and Lindner, S. (2018b). Fully automated production and characterization of ⁶⁴Cu and proof-of-principle small animal PET imaging using ⁶⁴Cu-labelled CA XII targeting 6A10 Fab. *ChemMedChem*

Alterio, V., Kellner, M., Esposito, D., Liesche-Starnecker, F., Bua, S., Supuran, C. T., Monti, S. M., Zeidler, R., and De Simone, G. (2019). Biochemical and Structural Insights into Carbonic Anhydrase XII/Fab6A10 Complex. *J Mol Biol* 431, 4910-4921.

Reulen, H. J., Suero Molina, E., Zeidler, R., Gildehaus, F. J., Böning, G., Gosewisch, A., and Stummer, W. (2019). Intracavitary radioimmunotherapy of high-grade gliomas: present status and future developments. *Acta Neurochir (Wien)* 161, 1109-1124.

Li, G., Chen, T. W., Nickel, A. C., Muhammad, S., Steiger, H. J., Tzaridis, T., Hänggi, D., Zeidler, R., Zhang, W., and Kahlert, U. D. (2021). Carbonic Anhydrase XII is a Clinically Significant, Molecular Tumor-Subtype Specific Therapeutic Target in Glioma with the Potential to Combat Invasion of Brain Tumor Cells. *Onco Targets Ther* 14, 1707-1718.

Hiepp, L., Mayr, D., Gärtner, K., Schmoekel, E., Klauschen, F., Burges, A., Mahner, S., Zeidler, R., and Czogalla, B. (in press). Carbonic anhydrase XII is an attractive marker and target molecule for detection and therapy of ovarian carcinomas. *PLOS ONE*

Kongressbeiträge: keine

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht
3. Titel Klinische Validierung eines patentierten Carboanhydrase XII-inhibierenden monoklonalen Antikörpers	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)]	5. Abschlussdatum des Vorhabens 30.09.2021
	6. Veröffentlichungsdatum n.a.
	7. Form der Publikation n.a.
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Helmholtz-Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt GmbH Ingolstädter Landstr. 1 85764 Neuherberg	9. Ber. Nr. Durchführende Institution n.a.
	10. Förderkennzeichen VIP_6A10_m
	11. Seitenzahl 17
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum) VDI/VDE; Berlin; März 2022	
18. Kurzfassung Glioblastome (GBM) gehören zu den Tumoren des Menschen mit der schlechtesten Prognose überhaupt. GBM können in jedem Lebensabschnitt auftreten und lassen im Median GBM-Patienten nur noch 12-15 Monate an Lebenszeit, weil fast unweigerlich Rezidive austreten. Diese Förderung diente insbesondere der Vorbereitung, sowie weiteren begleitenden Arbeiten als Vorbereitung einer Phase I-Studie, sowie der Durchführung der Studie selbst. Parallel hierzu erhielt das Projekt eine Zuwendung vom Helmholtz-Validierungsfonds für die GMP-gerechte Herstellung des Prüfmedikaments. Im Laufe des Projekts wurden, wenn auch mit zeitlicher Verzögerung, alle Arbeitspakete adressiert und erfolgreich umgesetzt. Es wurde aber schnell deutlich, dass die regulatorischen Ansprüche das Knowhow und die Möglichkeiten der Projektgruppe fordern, wenn nicht überfordern. Das Projekt erhielt aber rechtzeitig Unterstützung durch die Firma ITM Isotope Technologies Munich SE, die bei der Herstellung von Dokumenten und der Herstellungsgenehmigung entscheidende Beiträge lieferte. Das Interesse von ITM ging so weit, dass die Firma die Finanzierung der klinischen Studie übernimmt, wofür sie vom Helmholtz-Zentrum München eine Lizenz für den Antikörper zur Behandlung in der iRIT erhält. Zum heutigen Tag laufen die letzten Vorbereitungen für die Phase I-Studie, die in Kürze beginnen wird. Die für die klinische Studie genehmigten Fördermittel wurden an das BMBF zurückgezahlt und das Projekt mit Erreichen des Förderziels für erfolgreich beendet erklärt.	
19. Schlagwörter Glioblastom, therapeutische Antikörper, Radioimmuntherapie, Carboanhydrase XII	
20. Verlag	21. Preis

Document Control Sheet

1. ISBN or ISSN	2. type of document (e.g. report, publication)
3. title Klinische Validierung eines patentierten Carboanhydrase XII-inhibierenden monoklonalen Antikörpers	
4. author(s) (family name, first name(s))	5. end of project 30.09.2021
	6. publication date n.a.
	7. form of publication n.a.
8. performing organization(s) (name, address) Helmholtz-Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt GmbH Ingolstädter Landstr. 1 85764 Neuherberg	9. originator's report no. n.a.
	10. reference no. VIP_6A10_m
	11. no. of pages 17
12. sponsoring agency (name, address) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. no. of references
	14. no. of tables
	15. no. of figures
16. supplementary notes	
17. presented at (title, place, date) VDI/VDE; Berlin; März 2022	
18. abstract Patients with glioblastoma have a very poor clinical prognosis. The median overall survival is only 12-15 months following diagnosis of the disease. Local recurrency is the major cause of death. This project aimed at the preparation of a first-in-man clinical study with a proprietary Fab fragment coupled to 177-Lutetium. The project could be realized successfully, with considerable delay though. During the last phase of the project, we received considerable support the company ITM Isotope Technologies Munich SE. At the end of the project, ITM and HMGU entered into an option and licensing agreement, granting ITM the right for clinical development and marketing of the product. The Paul Ehrlich-Institute granted us permission for the clinical study which will start in May 2022.	
19. keywords Glioblastoma, therapeutic antibodies, carbonic anhydrase XII, radioimmunotherapy	
20. publisher	21. price