

Forum 2020 · 35:316–322

<https://doi.org/10.1007/s12312-020-00811-1>

Online publiziert: 24. Juli 2020

© Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von Springer Nature 2020



Ulrike Koehl<sup>1,2,3</sup> · Jens Augustin<sup>1</sup> · Andrea Quaiser<sup>1</sup> · André-René Blaudszun<sup>1</sup> · Vladan Vucinic<sup>4</sup> · Uwe Platzbecker<sup>4</sup> · Krasimira Aleksandrova<sup>3</sup> · Kati Kebbel<sup>1</sup> · Gerno Schmiedeknecht<sup>1</sup> · Stephan Fricke<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie, Leipzig, Deutschland<sup>2</sup> Institut für Klinische Immunologie, Universität und Universitätsklinikum Leipzig, Leipzig, Deutschland<sup>3</sup> Institut für Zelltherapeutika, Medizinische Hochschule Hannover, Hannover, Deutschland<sup>4</sup> Klinik für Hämatologie, Hämostaseologie und Zelltherapie, Universitätsklinikum Leipzig, Leipzig, Deutschland

## Biotechnologische Innovationen im Bereich zellulärer Therapien

### CAR-T-Zellen als Beispiel für lebende Medikamente

Obwohl die Sterblichkeitsrate verschiedener Krebserkrankungen in den vergangenen Jahrzehnten durch Therapieoptimierung, erweiterter Diagnostik und Prävention deutlich reduziert werden konnte, hat die Diagnose Krebs nicht an Schrecken eingebüßt. Einer der Hauptgründe ist die Komplexität und Heterogenität der unter dem Begriff Krebs zusammengefassten Erkrankungen, die zu sehr unterschiedlichen Prognosen führen.

#### Zell- und Gentherapien in der Immunonkologie

In der modernen Medizin konnte in den letzten beiden Dekaden neben den 3 Säulen der „klassischen“ Krebstherapie (Chirurgie, Chemotherapie, Strahlentherapie) als vierte Säule erfolgreich die Immuntherapie eingeführt werden. Zahlreiche Immuntherapien zielen darauf ab, Krebszellen mithilfe des körpereigenen Immunsystems zu bekämpfen. Innerhalb der Immuntherapien gibt es

verschiedene Ansätze. Die sog. Immuncheckpoint-Inhibition adressiert die immunsupprimierenden Eigenschaften von Tumorzellen und fördert den Angriff der körpereigenen Immunzellen auf die Tumorzellen. In der Zell- und Gentherapie werden körpereigene Immunzellen oder Immunzellen gesunder Spender aufgereinigt, ggf. *ex vivo* expandiert und/oder genetisch verändert, um Krebszellen zu erkennen und möglichst spezifisch zu eliminieren.

Das Konzept zellbasierter Therapien reicht bis in die 1960er-Jahre zurück, wo erste Knochenmarktransplantationen, gefolgt von peripheren Blutstammzelltransplantationen realisiert wurden. Mit weit über 1 Million erfolgreichen Durchführungen weltweit gehört die hämatopoetische Stammzelltransplantation heute zu den etablierten Verfahren in der Krebsmedizin [1, 2]. Es folgten über die letzten beiden Dekaden Behandlungen mit verschiedenen Zell- und Gentherapeutika (Abb. 1), von denen die meisten individualisiert hergestellt und als Prüfpräparate in frühen klinischen Phase-I/IIa-Studien appliziert werden [3]. Breiter eingesetzt werden inzwischen mesenchymale Stromazellen zur Behandlung der Graft-versus-Host-Erkrankung, virusspezifische T-Zellen bei schweren Infektionen und zur Behandlung von Posttransplantationslymphomen („post-transplant lymphoproliferative disorder“;

PTLD) sowie insbesondere die Applikation sog. CAR(chimärer Antigenrezeptor)-T-Zellen in der Krebsmedizin. Neben personalisierter Medizin mit autologen Zellen kommen auch allogene, Off-the-Shelf-Therapien zum Einsatz.

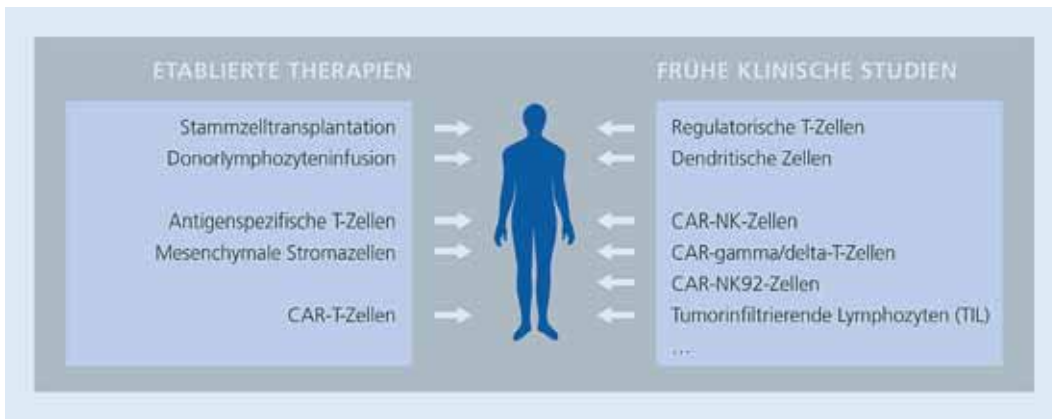
#### CAR-T-Zell-Therapien

Basierend auf den Entwicklungen von Prof. Zelig Eshhar vom Weizmann-Institut für Wissenschaften in Rehovot, Israel, der in den 1990er-Jahren zytotoxische T-Zellen mit einem rekombinanten Oberflächenmolekül ausstattete, das einerseits Spezifität für Tumorzellen besitzt und andererseits eine Aktivierung der T-Zellen vermittelt [4], hat diese CAR-Technologie inzwischen nach Erreichen beeindruckender klinischer Ergebnisse einen wichtigen Stellenwert in der Krebsmedizin erlangt [5–8]. Mitte 2017 (USA) und 2018 (EU) erfolgte die Zulassung zweier Arzneimittel für neuartige Therapien („advanced therapy medicinal products“, ATMP), nämlich Yescarta® (Kite/Gilead) und Kymriah® (Novartis), bei denen diese genmodifizierten CAR-T-Zellen, gerichtet gegen CD19, zur Behandlung refraktärer oder rezidivierender akuter lymphatischer B-Zell-Leukämie (B-ALL) und diffus großzelliger B-Zell-Lymphome (DLBCL) eingesetzt werden [9–11].

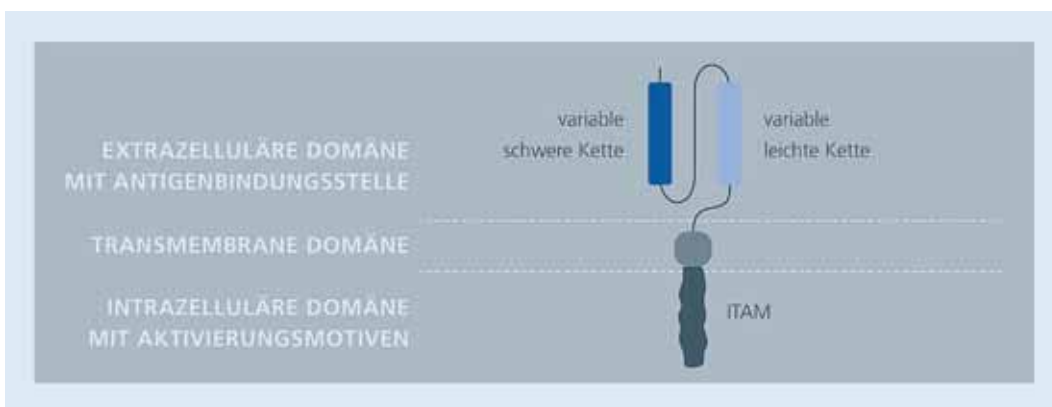
#### • Autor



**Prof. Dr. Ulrike Koehl**  
Fraunhofer-Institut  
für Zelltherapie und  
Immunologie, Leipzig



**Abb. 1** ◀ Zell- und Gentherapien in der Immunonkologie (CAR chimärer Antigenrezeptor, NK-Zellen natürliche Killerzellen). (Mit freundl. Genehmigung, © Fraunhofer IZI, alle Rechte vorbehalten)



**Abb. 2** ◀ Grundlegender Aufbau chimärer Antigenrezeptoren (CAR; ITAM Immunrezeptor-Tyrosin-basierte-Aktivierungsmotive). (Mit freundl. Genehmigung, © Fraunhofer IZI, alle Rechte vorbehalten)

T-Zellen sind Teil der adaptiven Immunabwehr. Sie erkennen körperfremde Strukturen, wenn diese auf körpereigenen Zellen präsentiert werden, und können daraufhin eine Immunantwort gegen das entsprechende Antigen auslösen. Da dies nicht immer ausreichend gut funktioniert, kann diese Reaktion über einen CAR deutlich verstärkt werden, ein künstlich generiertes Oberflächenmolekül, zusammengesetzt aus den signalübertragenden Teilen des T-Zell-Rezeptors und einer extrazellulären variablen antigenerkennenden Region, die HLA (humanes Leukozytenantigen)-unabhängig spezifische Antigene erkennen und binden kann (Abb. 2). Durch Transduktion, meist mithilfe lentiviraler Vektoren, werden die T-Zellen genetisch so manipuliert, dass sie den CAR dauerhaft exprimieren und diesen auch bei Zellteilung an Folgegenerationen weitergeben können. Nach Bindung der CAR-T-Zelle an das Zielantigen auf der Krebszelle wird eine Signaltransduktionskaskade in der T-Zelle aktiviert und damit die Sekretion proinflammatori-

scher Zytokine und lytischer Granula eingeleitet, was schließlich zum Zelltod der Tumorzelle führt. Dabei wird die Effektivität des CAR durch die extrazelluläre Domäne, insbesondere aber durch die intrazellulären Domänen (Abb. 3) beeinflusst, deren Modifikationen derzeit in 5 Generationen beschrieben werden (Abb. 1; [12–14]).

Die bislang zugelassenen CAR-T-Zell-Therapien Kymriah® und Yescarta® adressieren das Zielmolekül CD19. Viele weitere Zielantigene (Abb. 2) befinden sich bereits in der Entwicklung, und die entsprechenden CAR-T-Zell-Therapien werden in klinischen Studien geprüft [15–17]. Dabei ist die Wahl des richtigen Antigens essenziell für den Therapieerfolg und das Sicherheitsprofil der CAR-T-Zellen. Je unspezifischer das Antigen für die Krebszellen ist, desto schwerwiegender können die Nebenwirkungen sein. Weltweit gibt es über 1000 klinische Studien, in denen CAR-T-Zellen eingesetzt werden, die im amerikanischen Register ClinicalTrials.gov registriert sind.

Neben den CAR-Rezeptoren werden auch die Technologien zur sicheren Integration in das Genom der Zielzellen z. B. durch neue Gen-Editing-Verfahren (CRISPR [„clustered regularly interspaced short palindromic repeats“]/CAS9 [„CRISPR-associated protein 9“]) oder Transposontechnologien (z. B. Sleeping Beauty) stetig weiterentwickelt [18, 19]. Ebenso gibt es Ansätze mit mono- bzw. bivalenten UniCAR-Systemen, die sich auch für allogene Ansätze eignen [20].

Eine der Herausforderungen der CAR-T-Zell-Therapie ist deren potenzielles Nebenwirkungsprofil; hier sind insbesondere die Erkennung und Behandlung des Zytokinsturms („cytokine release syndrome“) als häufigste und schwere Nebenwirkung zu nennen. Darüber hinaus erfordern Symptome wie schweres Fieber, Myalgien, respiratorische und renale Insuffizienz sowie Koagulopathien regelmäßig eine intensivmedizinische Behandlung. Neben dem Zytokinsturm wurden auch Neurotoxizität („immune effector cell-associ-

ated neurotoxicity“, ICAN) und schwere Infektionen in Folge von Neutropenien beschrieben. Aus diesem Grund werden CAR-T-Zell-Therapien in speziell qualifizierten Zentren durchgeführt, die über die entsprechende Infrastruktur und Qualifizierung verfügen, welche in den Therapieempfehlungen zusammengefasst sind [21].

### Zentralisierte und dezentralisierte Herstellung von CAR-T-Zellen: vom teil- zum vollautomatisierten Prozess

Im Rahmen der personalisierten CAR-T-Zell-Therapie werden vom Patienten durch eine Apherese zunächst Immunzellen gewonnen und anschließend kryokonserviert. Nach Transport zum Herstellungszentrum erfolgt in speziellen Reinraumlaboren die Weiterverarbeitung der Immunzellen (Abb. 4, exemplarisch ein Ausschnitt aus der GMP[Good Manufacturing Practice]-Reinraum-Anlage des Fraunhofer IZI [Institut für Zelltherapie und Immunologie]). Die T-Lymphozyten werden aufgetaut, gewaschen, ggf. immunomagnetisch aufgereinigt, aktiviert, transduziert, expandiert und am Ende des Herstellungsprozesses gewonnen und formuliert. Nach entsprechender Konditionierung werden dem Patienten die modifizierten CAR-T-Zellen appliziert.

Bisher ist der Herstellungsprozess überwiegend teilautomatisiert (Abb. 5, oben) mit mehreren, auch manuellen Einzelschritten und umfasst durchschnittlich 10 bis 12 Tage. Aufgrund der umfangreichen Qualitätskontrollen, Logistik und Freigaberegime dauert es im Schnitt etwa 21 Tage von der Apherese bis zur Applikation des fertigen Medikaments [22–25]. Der aufwändige Prozess erfordert neben qualifizierten klinischen Zentren eine spezielle Logistik und qualifizierte Reinraumlabor, in denen das Produkt GMP-konform hergestellt wird. Damit eng verbunden sind umfassende Qualitätskontrollen (QC) inkl. „In-Prozess-Kontrollen“ und Dokumentationen [26].

Für die Herstellung und Freigabe der CAR-T-Zellen sind getrennt jeweils die Leitung der Herstellung und der Qua-

Forum 2020 · 35:316–322 <https://doi.org/10.1007/s12312-020-00811-1>  
© Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von Springer Nature 2020

U. Koehl · J. Augustin · A. Quaiser · A.-R. Blaudszun · V. Vucinic · U. Platzbecker · K. Aleksandrova · K. Kebbel · G. Schmiedeknecht · S. Fricke

### Biotechnologische Innovationen im Bereich zellulärer Therapien. CAR-T-Zellen als Beispiel für lebende Medikamente

#### Zusammenfassung

Zelluläre Immuntherapien mit autologen T-Zellen, die durch einen chimären Antigenrezeptor (CAR) eine definierte Spezifität gegen Krebszellen erlangen, führten zu langfristigen Remissionen in der Behandlung von CD19+-Leukämien und Lymphomen. Nach der Marktzulassung der beiden Arzneimittel für neuartige Therapien (ATMP) Kymriah® (Novartis) und Yescarta® (KITE/Gilead) rücken die Prozessoptimierung und die Finanzierung von ATMP für verschiedene Krebserkrankungen in den Vordergrund von Forschungs- und Entwicklungsprojekten für dezentrale und zentrale Herstellungsprozesse. Dies bedeutet einerseits Weiterentwicklungen von teilautomatisierten zu vollautomatisierten

Prozessen zur Herstellung und zur komplexen Qualitätskontrolle. Andererseits erfordert zukünftig die flächendeckende Behandlung verschiedener Krebserkrankungen mit CAR-T-Zellen und anderen ATMP auch die Entwicklung automatisierter, digital gesteuerter, modularer Produktionsstraßen mit hohem Durchsatz im Sinne einer industriellen Entwicklung 4.0.

#### Schlüsselwörter

Zelluläre Immuntherapie · Chimärer Antigenrezeptor · Arzneimittel für neuartige Therapien · Automatische Herstellungsprozesse · Digital gesteuerte Produktionsstraßen

### Biotechnological innovations in the field of cellular therapies. CAR T cells as an example of living medicine

#### Abstract

Cellular immunotherapies with autologous T cells, which acquire a defined specificity against cancer cells through a chimeric antigen receptor (CAR), have led to long-term remission in the treatment of CD19+ leukemias and lymphomas. Following the marketing approval of the two advanced therapy medicinal products (ATMP) Kymriah® (Novartis) and Yescarta® (KITE/Gilead), process optimization and financing of ATMPs for various cancers are moving to the forefront of research and development projects for decentralized and centralized manufacturing processes. On the one hand, this means further developments from

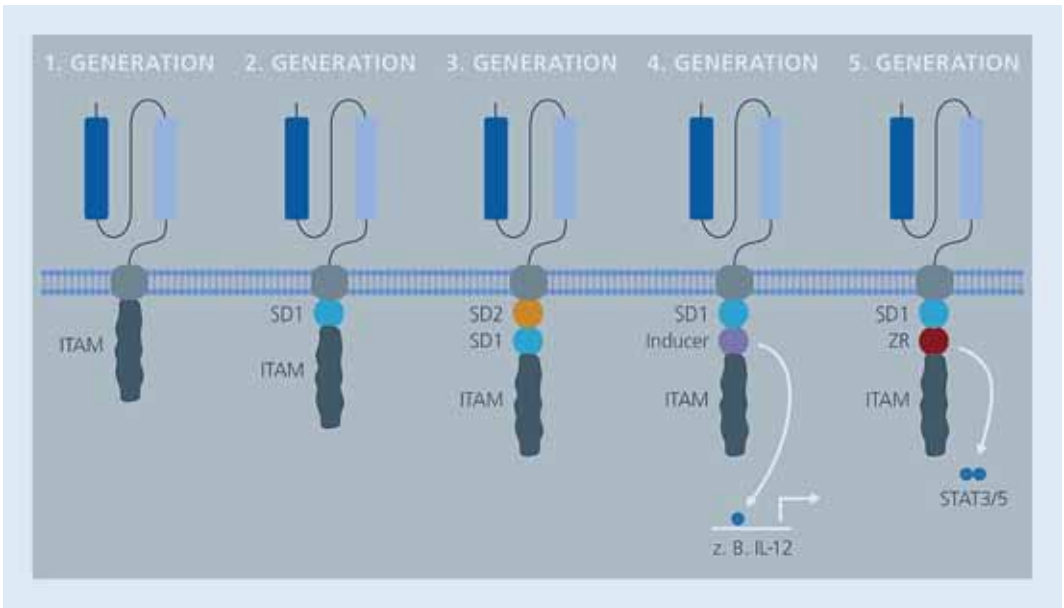
partially automated to fully automated processes for manufacturing and for complex quality controls. On the other hand, the future treatment of various cancers with CAR T cells and other ATMPs also requires the development of automated, digitally controlled, modular production lines with high throughput in terms of an industrial development 4.0.

#### Keywords

Cellular immunotherapy · Chimeric antigen receptor · Advanced therapy medicinal products · Automated manufacturing · Digitally controlled production lines

litätskontrolle sowie übergeordnet die sachkundige Person zuständig. Vorgaben zur Qualitätskontrolle sind in der European Pharmacopoeia und in der ICH(International Conference on Harmonisation)-Q2 beschrieben [27, 28]. Regulatorisch unterliegen in Deutschland dem Paul-Ehrlich-Institut (PEI) die Beratung und Zulassung klinischer Studien und der jeweiligen Landesbehörde die Erteilung der Herstellungserlaubnis. Hinsichtlich des zentralen Zulassungsverfahrens gibt es Unterschiede zwischen

den USA und Europa [25]; für Letzteres ist die European Medicines Agency (EMA) zuständig. Aufgrund der Komplexität von ATMP wurde 2017 ein risikobasierter Ansatz von der Europäischen Union (EU) veröffentlicht, um einen flexiblen Herstellungsprozess zu ermöglichen. Innerhalb der EU sorgen der EU-GMP-Leitfaden, Teil 4 (Leitlinien für die Gute Herstellungspraxis für ATMP), die Verordnung (EG) Nr. 1394/2007/EC und die Direktiven 2009/120/EC (technische Anforderungen und Definitionen),



**Abb. 3** ◀ 1. bis 5. Generation chimärer Antigenrezeptoren (CAR), schematisch (ITAM Immunrezeptor-Tyrosin-basierte-Aktivierungsmotive, SD Signaldomäne, ZR Zytokinrezeptor, IL Interleukin, STAT „signal transducers and activators of transcription“). (Mit freundl. Genehmigung, © Fraunhofer IZI, alle Rechte vorbehalten)



**Abb. 4** ▲ Herstellung von CAR(chimärer Antigenrezeptor)-T-Zellen in der pharmazeutischen Reinraumanlage (insgesamt 21 Reinnräume, biologische Sicherheitsstufe/Schutzstufe S2) des Fraunhofer IZI (Institut für Zelltherapie und Immunologie) gemäß Good Manufacturing Practice (GMP) in Leipzig. (Mit freundl. Genehmigung, © Fraunhofer IZI, alle Rechte vorbehalten)

2001/83/EC (allgemeine Rahmenbedingungen für ATMP) und 2006/86/EC (Vorgaben zum Ausgangsmaterial) für einen Rahmen zum einheitlichen Vorgehen bei ATMP [29, 30]. Dennoch sind die Harmonisierungen zur Herstellung und Qualitätskontrolle (QC) von ATMP noch lange nicht abgeschlossen.

Herstellungsprozesse und QC der verschiedenen, sowohl kommerziellen als auch akademischen Hersteller von CAR-T-Zellen werden regelmäßig auditiert. Insgesamt ist daher weltweit der teilautomatisierte, zentrale Herstellungsprozess für CAR-T-Zellen gut etabliert und wird an den Herstellungsstätten auf einem hohen Niveau durchgeführt. Als Beispiel

dient das Fraunhofer IZI in Leipzig, an dem in einer engen Kooperation zwischen den Mitarbeitenden des Fraunhofer IZI und dem Unternehmen Novartis zunächst zentral etliche CAR-T-Zell-Produkte für die europäischen Zulassungsstudien von Tisagenlecleucel in den Indikationen DLBCL und pädiatrische ALL hergestellt wurden. Diese Zusammenarbeit setzt sich fort mit der Herstellung von Kymriah® im Rahmen der Regelversorgung, begleitet durch Studien, in denen zum einen erweiterte QC-Untersuchungen zu den CAR-T-Zellen und zum anderen mit der Klinik für Hämatologie und Zelltherapie des Universitätsklinikums Leipzig ein enges Moni-

toring der Patienten nach CAR-T-Zell-Applikation stattfinden. Dies wurde nun auch mit etlichen weiteren klinischen Partnern initiiert, um bessere Erkenntnis über den Einfluss der CAR-T-Zell-Produkt-Qualität auf den klinischen Verlauf der Patienten zu erhalten. Bisher wurden am Fraunhofer IZI in der Partnerschaft mit Novartis mehr als 300 CAR-T-Zell-Produkte für Patienten in Europa hergestellt.

Da der teilautomatisierte, aufwändige manufakturähnliche GMP-Prozess durch großen Personalaufwand zu hohen Behandlungskosten führt, ist das Interesse an einer vollautomatisierten Herstellung von CAR-T-Zellen sehr groß und steht neben der wissenschaftlich-technischen Weiterentwicklung der Produkte im Vordergrund von Forschungsprojekten. Entwicklungen dazu befinden sich bereits auf dem Markt bzw. in der klinischen Evaluierung, z. B. die Cocoon®-Plattform der Firma Lonza oder der CliniMACS Prodigy® der Firma Miltenyi Biotec [25]. Letzterer bietet eine technische Lösung zur automatisierten Zellprozessierung in einem geschlossenen, GMP-konformen System an. Damit kann der gesamte Workflow von der Separation der Zielzellen bis zur finalen Formulierung abgebildet werden. Die erfolgreiche Prozessierung der Zellen, unter Anwendung harmonisierter Protokolle und Einbindung prozessin-

**Tab. 1** Unterschiedlicher Aufbau der intrazellulären Domäne chimärer Antigenrezeptoren (CAR) der 1. bis 5. Generation

Generation	Aufbau intrazelluläre Domäne
1	Immunrezeptor-Tyrosin-basierte-Aktivierungsmotive (ITAM)/Signal-domäne (CD3-zeta)
2	Immunrezeptor-Tyrosin-basierte-Aktivierungsmotive (ITAM)/Signal-domäne (CD3-zeta) + kostimulierende Signal-domäne (z. B. CD28 oder 4-1BB)
3	Immunrezeptor-Tyrosin-basierte-Aktivierungsmotive (ITAM)/Signal-domäne (CD3-zeta) + kostimulierende Signal-domäne 1 (z. B. OX40 oder 4-1BB) + kostimulierende Signal-domäne 2 (CD28)
4	Immunrezeptor-Tyrosin-basierte-Aktivierungsmotive (ITAM)/Signal-domäne (CD3-zeta) + kostimulierende Signal-domäne 1 (z. B. OX40 oder 4-1BB) + transiente Expression transgener Proteine (Zytokine, Antikörper, kostimulatorische Proteine)
5	Immunrezeptor-Tyrosin-basierte-Aktivierungsmotive (ITAM)/Signal-domäne (CD3-zeta) + kostimulierende Signal-domäne 1 (z. B. CD28 oder 4-1BB) + Motiv für Zytokinrezeptoren und Bindestelle für STAT3/5

STAT „signal transducers and activators of transcription“

**Tab. 2** Auswahl wichtiger Zielmoleküle, die bei der Behandlung verschiedener Krebserkrankungen mit CAR(chimärer Antigenrezeptor)-T-Zellen adressiert werden

Zielantigene	Adressierte Indikationen
CD19	Diffus-großzelliges B-Zell-Lymphom (DLBCL), andere Non-Hodgkin-Lymphome (NHL), akute lymphatische B-Zell-Leukämie (ALL)
CD20, CD22, CD30, CD33, CD123, ROR1, CD138, BCMA	Multipl. Myelom (MM), NHL, Hodgkin-Lymphome, chronisch-lymphatische Leukämie (CLL), akute myeloische Leukämie (AML)
CEA	Kolorektales Karzinom, Mammakarzinom, Lebermetastasen
Mesothelin	Pleuromesotheliom, Pankreaskarzinom, Lungenkarzinom
ErbB2/HER2, GD2	Neuroblastom, Sarkom
GPC3	Plattenepithelkarzinom der Lunge, hepatozelluläres Karzinom

BCMA „B-cell maturation antigen“, CEA „carcinoembryonal antigen“, ROR1 „receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 1“, ErbB2 „erb-b2 receptor tyrosine kinase 2“, HER2 „human epidermal growth factor receptor 2“, GD2 Disialogangliosid, GPC3 Glypican 3

terner Parameter, konnte in bisherigen Studien gezeigt werden [31–35]. Dies erlaubt neben der Nutzung des CliniMACS Prodigy® im Rahmen zentraler Herstellungsstätten auch die dezentrale Herstellung in kleinen akademischen GMP-Anlagen für klinische Phase-I/IIa-Studien. Es ist in diesem Zusammenhang aber darauf hinzuweisen, dass das GMP-Training für CAR-T-Zellen auch für die automatisierte Herstellung aufwändig ist und regelmäßig auf hohem Niveau durchgeführt werden muss. Akademische Zentren, die regelmäßig auch andere Produkte herstellen, können ein hohes Maß an Training erreichen. Als Beispiel dient hier die universitäre Herstellungs-

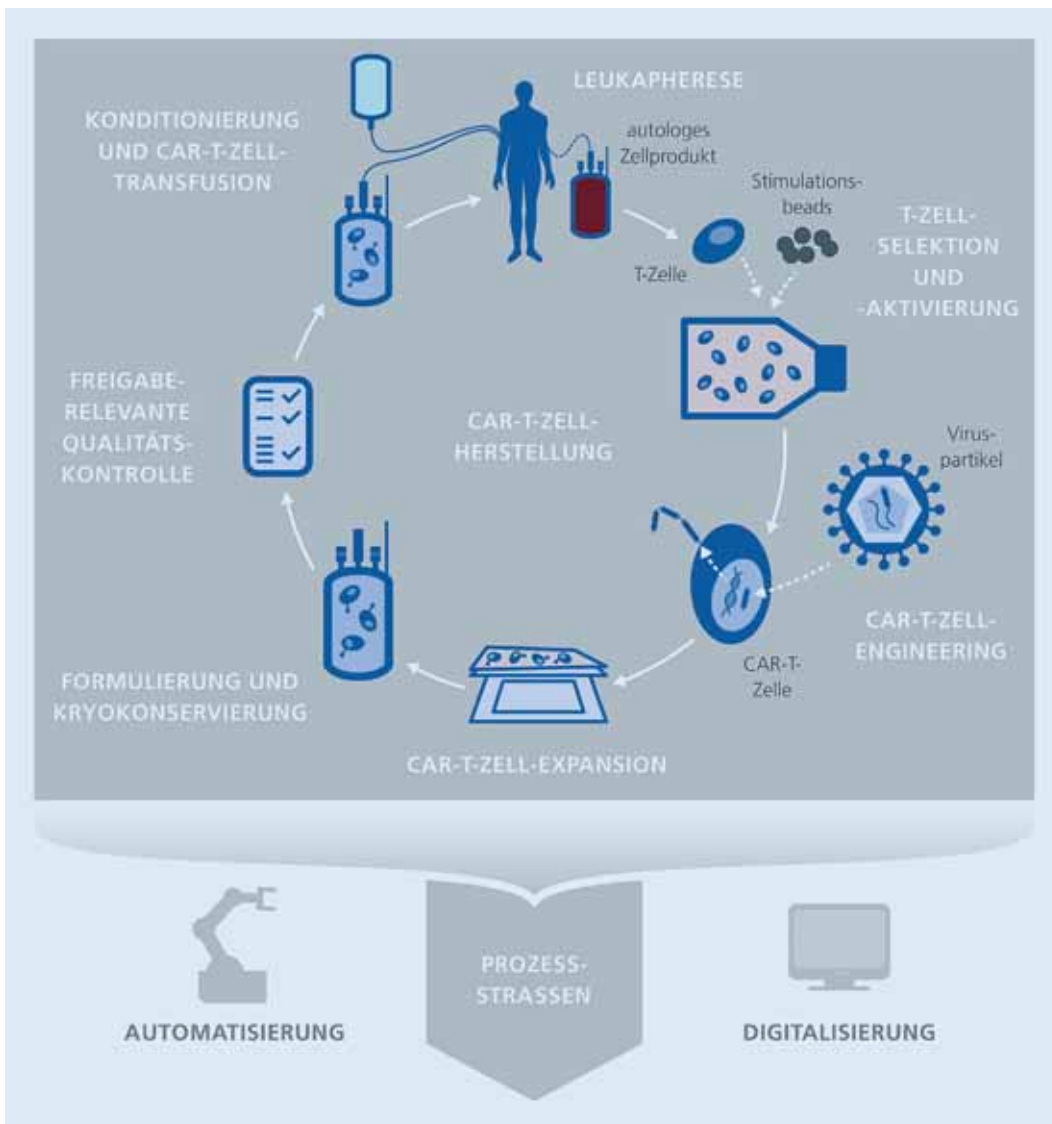
stätte an der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH), in der CAR-T-Zellen in Kooperation mit der Firma Miltenyi Biotec auf dem CliniMACS Prodigy® hergestellt werden. Diese sind gerichtet gegen CD20 für eine Phase-I/IIa-Studie für Patienten mit rezidiviertem Melanom (gefördert durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung [BMBF]). Da das Personal neben der Herstellung der CAR-T-Zellen auch sämtliche Blutstammzellzubereitungen für die MHH und die umliegenden Kliniken tätigt und regelmäßig viruspezifische T-Zellen am CliniMACS Prodigy® herstellt, ist zum fortlaufenden theoretischen Training auch das praktische Training gewähr-

leistet. Sollen hingegen in einer GMP-Anlage ausschließlich CAR-T-Zellen hergestellt werden, ist der zusätzliche Kostenaufwand für Training und Trainingsmaterialien enorm.

### Herausforderungen und Fazit: digitale, automatische Prozesssteuerung

Mit der Entwicklung von CAR-T-Zell-Therapien als lebende Krebsmedikamente zeichnet sich in der Krebsmedizin eine Revolution ab, verbunden mit einem rasch wachsenden Markt. Bisherige Prozesse für CAR-T-Zellen sind zeitaufwändig und teuer: bei teilautomatisierter Herstellung rund 250.000 Euro pro Patient. Mit automatisierter Herstellung lassen sich Personalaufwand und damit die Kosten reduzieren. Derzeit erlaubt die Produktion nur die Umsetzung von CAR-T-Zell-Produkten für eine geringe Patientenzahl. Dies ist ausreichend für die weltweite Herstellung von CAR-T-Zell-Produkten für Patienten mit DLBCL und Patienten mit B-ALL mit den bereits zugelassenen ATMP an den kommerziellen sowie akademischen Herstellungsstätten. Gelingt es aber in den nächsten Jahren, die CAR-T-Zell-Technologie auch für Patienten mit verschiedenen hoch malignen Tumoren einzusetzen, werden 100-fach mehr Patienten adressiert. Die entsprechenden Produkte können dann in ausreichender Zahl nur durch automatisierte, digital gesteuerte, modulare Produktionsstraßen mit hohem Durchsatz hergestellt werden (Abb. 5, unten).

Um eine zeitnahe Transition von den menschlich-manuellen Fertigungsprozessen zu weitgehend autonomen, vollautomatisierten Lösungen zu ermöglichen, müssen fundamental neue Technologien etabliert werden. Diese müssen mit vielseitigen sensomotorischen Fähigkeiten ausgestattet sein, intuitiv mit menschlichen Experten zusammenarbeiten und ggf. im Sinne der Künstlichen Intelligenz (KI) selbstständig lernen. Datenerfassung und Zugänglichkeit von Metadaten werden eine entscheidende Rolle spielen. Der Blick auf andere industrielle Bereiche, in denen die Industrie 4.0 bereits Einzug gehalten hat, könnte bei der Um-



**Abb. 5** ◀ Von der teilautomatisierten (oben) zur vollautomatisierten Herstellung von CAR(chimärer Antigenrezeptor)-T-Zellen in Prozessstraßen mit digitaler Steuerung von parallelisierten Prozessen. (Mit freundl. Genehmigung, © Fraunhofer IZL, alle Rechte vorbehalten)

setzung dieser Entwicklungen helfen. Dazu bedarf es jedoch ganzheitlicher Forschungs- und Entwicklungsansätze sowie des politischen Willens, dies umzusetzen.

### Korrespondenzadresse

**Prof. Dr. Ulrike Koehl**

Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie  
Perlickstraße 1, 04103 Leipzig, Deutschland  
ulrike.koehl@izi.fraunhofer.de  
ulrike.koehl@medizin.uni-leipzig.de  
koehl.ulrike@mh-hannover.de

### Einhaltung ethischer Richtlinien

**Interessenkonflikt.** U. Koehl gibt an, als Beraterin in der Immunonkologie tätig zu sein für AstraZeneca, Afmed, Glycostem und GammaDelta sowie hinsichtlich der Herstellung von CAR-T-Zellen in Kooperationen zu stehen mit den Firmen Novartis und Miltenyi Biotec. U. Platzbecker ist beratend für die Firmen Novartis und BMS tätig. J. Augustin, A. Quaiser, A.-R. Blaudszun, V. Vucinic, K. Aleksandrova, K. Keibel, G. Schmiedeknecht und S. Fricke geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autoren keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

### Literatur

1. Zentrales Knochenmarkspender-Register Deutschland <https://www.zkrd.de/de/>. Zugegriffen: 25. Febr. 2020
2. Snowden JA, Saccardi R, Orchard K et al (2020) Benchmarking of survival outcomes following haematopoietic stem cell transplantation: a review of existing processes and the introduction of an international system from the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE). *Bone Marrow Transplant* 55(4):681–694. <https://doi.org/10.1038/s41409-019-0718-7>
3. Quaiser A, Köhl U (2018) Was ist gesichert bei den Zelltherapien? Möglichkeiten und Grenzen in der Immunonkologie. *Internist* 59(12):1230–1238. <https://doi.org/10.1007/s00108-018-0516-0>
4. Eshhar Z, Waks T, Gross G, Schindler DG (1993) Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*

- 90(2):720–724. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.2.720>
5. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter DL, Rheingold SR, Teachey DT, Chew A, Hauack B, Wright JF, Milone MC, Levine BL, June CH (2013) Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 368(16):1509–1518. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1215134>
  6. Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH, Somerville RPT, Carpenter RO, Stetler-Stevenson M, Yang JC, Phan GQ, Hughes MS, Sherry RM, Raffeld M, Feldman S, Lu L, Li YF, Ngo LT, Goy A, Feldman T, Spaner DE, Wang ML, Chen CC, Kranick SM, Nath A, Nathan D-AN, Morton KE, Toomey MA, Rosenberg SA (2015) Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor. *J Clin Oncol* 33(6):540–549. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.56.2025>
  7. Brentjens RJ, Davila ML, Riviere I, Park J, Wang X, Cowell LG, Bartido S, Stefanski J, Taylor C, Olszewska M, Borquez-Ojeda O, Qu J, Wasielewska T, He Q, Bernal Y, Rijo IV, Hedvat C, Kobos R, Curran K, Steinherz P, Jurcic J, Rosenblatt T, Maslak P, Frattini M, Sadelain M (2013) CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med* 5(177):177r. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3005930>
  8. Maude SL, Frey N, Shaw PA, Aplenc R, Barrett DM, Bunin NJ, Chew A, Gonzalez VE, Zheng Z, Lacey SF, Mahnke YD, Melenhorst JJ, Rheingold SR, Shen A, Teachey DT, Levine BL, June CH, Porter DL, Grupp SA (2014) Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med* 371(16):1507–1517. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1407222>
  9. European Medicines Agency Yescarta. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/yescarta#product-information-section>. Zugegriffen: 15. Juni 2020
  10. European Medicines Agency Kymriah. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/kymriah>. Zugegriffen: 15. Juni 2020
  11. Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und med. Onkologie e.V. CAR-T-Zellen Strukturkriterien. <https://www.dgho.de/publikationen/stellungnahmen/gute-aerztliche-praxis/car-t-zelltherapie/car-t-zellen-strukturkriterien-20190313.pdf/view>. Zugegriffen: 15. Juni 2020
  12. Holzinger A, Barden M, Abken H (2016) The growing world of CAR T cell trials: a systematic review. *Cancer Immunol Immunother* 65(12):1433–1450. <https://doi.org/10.1007/s00262-016-1895-5>
  13. Chmielewski M, Abken H (2015) TRUCKS: the fourth generation of CARs. *Expert Opin Biol Ther* 15(8):1145–1154. <https://doi.org/10.1517/14712598.2015.1046430>
  14. Tokarew N, Ogonek J, Endres S, von Bergwelt-Baildon M, Kobold S (2019) Teaching an old dog new tricks: next-generation CART cells. *Br J Cancer* 120(1):26–37. <https://doi.org/10.1038/s41416-018-0325-1>
  15. Hartmann J, Schüßler-Lenz M, Bondanza A, Buchholz CJ (2017) Clinical development of CAR T cells—challenges and opportunities in translating innovative treatment concepts. *EMBO Mol Med* 9(9):1183–1197. <https://doi.org/10.15252/emmm.201607485>
  16. Abken H (2017) Driving CARs on the highway to solid cancer: some considerations on the adoptive therapy with CART cells. *Hum Gene Ther* 28(11):1047–1060. <https://doi.org/10.1089/hum.2017.115>
  17. Stüber T, Monjezi R, Wallstabe L, Kühnemundt J, Nietzer SL, Dandekar G, Wöckel A, Einsele H, Wischhusen J, Hudecek M (2020) Inhibition of TGF- $\beta$ -receptor signaling augments the antitumor function of ROR1-specific CAR T-cells against triple-negative breast cancer. *J Immunother Cancer*. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-000676>
  18. Qasim W, Zhan H, Samarasinghe S, Adams S, Amrolia P, Stafford S, Butler K, Rivat C, Wright G, Soman K, Ghorashian S, Pinner D, Ahsan G, Gilmour K, Lucchini G, Ingloft S, Mifsud W, Chiesa R, Peggs KS, Chan L, Farzaneh F, Thrasher AJ, Vora A, Pule M, Veys P (2017) Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN generated CART cells. *Sci Transl Med*. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaj2013>
  19. Kovač A, Misky C, Menzel M, Grueso E, Gogol-Döring A, Ivics Z (2020) RNA-guided retargeting of Sleeping Beauty transposition in human cells. *Elife*. <https://doi.org/10.7554/eLife.53868>
  20. Mitwasi N, Feldmann A, Arndt C, Koristka S, Berndt N, Jureczek J, Loureiro LR, Bergmann R, Máthé D, Hegedüs N, Kovács T, Zhang C, Oberoi P, Jäger E, Seliger B, Rössig C, Temme A, Eitler J, Tonn T, Schmitz M, Hassel JC, Jäger D, Wels WS, Bachmann M (2020) “UniCAR”-modified off-the-shelf NK-92 cells for targeting of GD2-expressing tumour cells. *Sci Rep* 10(1):2141. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59082-4>
  21. Yakoub-Agha I, Chabannon C, Bader P, Basak GW, Bonig H, Ciceri F, Corbacioglu S, Duarte RF, Einsele H, Hudecek M, Kersten MJ, Köhl U, Kuball J, Mielke S, Mohty M, Murray J, Nagler A, Robinson S, Saccardi R, Sanchez-Guijo F, Snowden JA, Srour M, Styczynski J, Urbano-Ispizua A, Hayden PJ, Kröger N (2020) Management of adults and children undergoing chimeric antigen receptor T-cell therapy: best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE). *Haematologica* 105(2):297–316. <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.229781>
  22. Hollyman D, Stefanski J, Przybylowski M, Bartido S, Borquez-Ojeda O, Taylor C, Yeh R, Capacio V, Olszewska M, Hoseney J, Sadelain M, Brentjens RJ, Riviere I (2009) Manufacturing validation of biologically functional T cells targeted to CD19 antigen for autologous adoptive cell therapy. *J Immunother* 32(2):169–180. <https://doi.org/10.1097/CJI.0b013e318194a6e8>
  23. Wang X, Riviere I (2016) Clinical manufacturing of CAR T cells: foundation of a promising therapy. *Mol Ther Oncolytics* 3:16015. <https://doi.org/10.1038/mto.2016.15>
  24. Quaiser A, Köhl U (2019) CAR-T-Zelltherapie: Wie ist der Aktuelle Stand? *Onkologie* 1:32–36
  25. Köhl U, Arsenieva S, Holzinger A, Abken H (2018) CAR T cells in trials: recent achievements and challenges that remain in the production of modified T cells for clinical applications. *Hum Gene Ther* 29(5):559–568. <https://doi.org/10.1089/hum.2017.254>
  26. Dłuczek S, Tretbar S, Fricke S, Köhl U (2019) CAR-T-Zellen: Update 2019. *Transfusionsmedizin* 9(03):187–200. <https://doi.org/10.1055/a-0833-2631>
  27. EDQM – European Directorate for the Quality of Medicines European pharmacopoeia (Ph. Eur.). 10th edition. <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-10th-edition>. Zugegriffen: 15. Juni 2020
  28. European Medicines Agency ICH Q2 (R1) Validation of analytical procedures: text and methodology. <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology>. Zugegriffen: 16. Juni 2020
  29. European Commission Comm/dg/unit (NaN) EudraLex—Volume 1—Pharmaceutical legislation for medicinal products for human use—Public Health. [https://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-1\\_en](https://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-1_en). Zugegriffen: 15. Juni 2020
  30. European Commission Comm/dg/unit (NaN) EudraLex—Volume 4—Good Manufacturing Practice (GMP) guidelines—Public Health. [https://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-4\\_en](https://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-4_en). Zugegriffen: 15. Juni 2020
  31. Kaiser AD, Assenmacher M, Schröder B, Meyer M, Orentas R, Bethke U, Dropulic B (2015) Towards a commercial process for the manufacture of genetically modified T cells for therapy. *Cancer Gene Ther* 22(2):72–78. <https://doi.org/10.1038/cgt.2014.78>
  32. Lock D, Mockel-Tenbrinck N, Drechsel K, Barth C, Mauer D, Schaser T, Kolbe C, Al Rawashdeh W, Brauner J, Hardt O, Pflug N, Holtick U, Borchmann P, Assenmacher M, Kaiser A (2017) Automated manufacturing of potent CD20-directed chimeric antigen receptor T cells for clinical use. *Hum Gene Ther* 28(10):914–925. <https://doi.org/10.1089/hum.2017.111>
  33. Priesner C, Aleksandrova K, Esser R, Mockel-Tenbrinck N, Leise J, Drechsel K, Marburger M, Quaiser A, Goudeva L, Arseniev L, Kaiser AD, Glienke W, Köhl U (2016) Automated enrichment, transduction, and expansion of clinical-scale CD62L+ T cells for manufacturing of gene therapy medicinal products. *Hum Gene Ther* 27(10):860–869. <https://doi.org/10.1089/hum.2016.091>
  34. Aleksandrova K, Leise J, Priesner C, Melk A, Kubaik F, Abken H, Hombach A, Aktas M, Essl M, Bürger I, Kaiser A, Rauser G, Jurk M, Goudeva L, Glienke W, Arseniev L, Esser R, Köhl U (2019) Functionality and cell senescence of CD4/CD8-selected CD20 CART cells manufactured using the automated CliniMACS prodigy® platform. *Transfus Med Hemother* 46(1):47–54. <https://doi.org/10.1159/000495772>
  35. Moutsatsou P, Ochs J, Schmitt RH, Hewitt CJ, Hanga MP (2019) Automation in cell and gene therapy manufacturing: from past to future. *Biotechnol Lett* 41(11):1245–1253. <https://doi.org/10.1007/s10529-019-02732-z>