

## MEDIENINFORMATION

Greifswald, 1. September 2017

### Zwei große Erfolge für Greifswalder Kinderonkologen

- **Immuntherapie des Neuroblastoms erhält erstmals Marktzulassung**
- **DFG unterstützt auch künftig Greifswalder Neuroblastom-Forschung**
- **Wissenschaftler forschen an einem Impfstoff gegen Krebszellen**

In den letzten Jahren hat sich die Kinderonkologische Abteilung der Universitätsmedizin Greifswald als eines der führenden Zentren im Bereich der Neuroblastom-Behandlung etabliert. Jetzt gibt es für die kleinen schwerkranken Kinder und die Jugendlichen gleich mehrere gute Nachrichten. Vor kurzem erhielt das Wiener Biotech-Unternehmen Apeiron AG erstmals die europäische Zulassung für die Immuntherapie zur Behandlung des tückischen Krebses. Eine wichtige Voraussetzung dafür waren mehrere klinische Studien an der Kinder- und Jugendmedizin Greifswald, an der junge Patienten aus aller Welt teilgenommen haben. Zudem erhält das Team um Klinikdirektor Prof. Holger Lode und Dr. Nikolai Siebert von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für die kommenden zwei Jahre eine weitere Zuwendung in Höhe von 265.000 Euro. Mit dem Geld soll die kombinierte Immuntherapie weiterentwickelt und ein Impfstoff getestet werden.

„Die Marktzulassung für die Immuntherapie ist ein riesiger Meilenstein in unserer inzwischen fast 25-jährigen Neuroblastom-Forschung“, zeigte sich der Kinderonkologe Prof. Holger Lode erleichtert. „Es gibt den betroffenen Familien und uns als Klinik Sicherheit für die Behandlung und Finanzierung. Die jahrelange Arbeit hat sich damit für uns ausgezahlt und kann mit Rückenwind fortgesetzt werden.“

Rund 100 Kinder aus aller Welt mit einem Neuroblastom sind bereits nach Greifswald gekommen, um die Krebserkrankung als letzte Möglichkeit mit einer speziellen Immuntherapie zu bekämpfen, die nur an wenigen Zentren angeboten wird. Das Neuroblastom ist eine der häufigsten Krebserkrankungen bei Kindern. Sie machen fast acht Prozent aller Krebserkrankungen im Kindes- und Jugendalter aus. Patienten mit dieser Erkrankung haben mit konventionellen Methoden immer noch eine sehr ungünstige Prognose. An Neuroblastomen erkrankte Kinder ohne Metastasen haben im Allgemeinen gute Heilungschancen von 70 bis 90 Prozent. Sind bereits Metastasen vorhanden und tritt der Tumor sehr aggressiv auf, dann ist er wesentlich schwieriger zu behandeln, die langfristige Überlebenschance ist deutlich geringer und liegt bei 30 bis 50 Prozent.

Die Greifswalder Kinderonkologen haben in den letzten Jahren die spezielle Immuntherapie für Kinder mit einem Neuroblastom bis zum klinischen Einsatz weiter entwickelt. Die Behandlung beruht derzeit auf einem Antikörper, der die Krebszellen als körperfremd markiert und so für das Immunsystem zur Bekämpfung sichtbar macht. Die Entwicklung der neuen Therapieform geschah in einem internationalen Netzwerk und einer deutschen Gruppe an der Universitätsmedizin Greifswald unter Leitung von Prof. Holger Lode. Im Jahr 2011 erwarb Apeiron die kommerziellen Rechte an dem Projekt und führte ab dann die Arbeiten zur Zulassung in Zusammenarbeit mit den internationalen akademischen Gruppen an. Im Zuge der bisherigen Studien konnten bereits mehr als 1.000 Patienten mit dem Medikament behandelt werden. Apeiron Biologics, die jetzt die Zulassung für den amerikanischen Markt vorbereiten, ist ein privat finanziertes Biotech-Unternehmen in Wien ([apeiron-biologics.com](http://apeiron-biologics.com)).

### Die Krebszellen dauerhaft mit einem Impfstoff bekämpfen

Aber auch nach diesen Erfolgen ist es weiterhin das Ziel der Greifswalder Forschungsgruppe, neue und noch wirkungsvollere Therapiemodalitäten zu erarbeiten und somit die Heilungschancen der jungen Patienten nachhaltig zu verbessern. Dafür erhielt das Team erneut eine Bewilligung von der Deutschen Forschungsgemeinschaft in Höhe von 265.000 Euro. Bereits 2015 hatte die Forschungsgruppe erstmalig eine Zuwendung von der DFG von 300 000 Euro erhalten. „Für unsere sehr aufwändige Arbeit an dieser komplexen Behandlungsmethode ist die Förderung eine großartige Unterstützung“, betonte Lode.

„Bei einem neuen Verfahren soll künftig ein dauerhafter Schutz gegen den Rückfall der Erkrankung mittels eines Impfstoffes erreicht werden“, erläuterte Dr. Nikolai Siebert (Foto), Leiter der Forschungsabteilung. „Unser Ziel ist es, einen Impfstoff gegen das Neuroblastom zu entwickeln, welcher das Immunsystem nicht nur stärker, sondern auch dauerhaft auf die Tumorzellen aufmerksam macht und so die natürliche Abwehr der Kinder gegen den Krebs ermöglicht. Durch einen solchen Impfstoff wäre es möglich, den Schutz gegen diesen aggressiven Tumor auch für mehrere Jahre nach der Behandlung, im besten Fall sogar lebenslang, aufrecht zu erhalten und die Wahrscheinlichkeit eines Rückfalls zu verringern. Wir sind sehr stolz darauf, dass unsere neusten Forschungsergebnisse zur Initiierung einer neuen kombinierten Immuntherapie in der Klinik beigetragen haben und setzen auf weitere Fortschritte in der Therapie. Auf der Station der Kinderonkologie können wir direkt den Erfolg unserer Arbeit sehen“, so Siebert. Insgesamt hat sich die Lebenserwartung durch neue medizinische Verfahren in den letzten 20 Jahren verdoppelt.

*Zur **Kinderonkologie im Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin** gehören eine Station, eine Tagesklinik sowie eine Ambulanz mit zwei Oberärzten, drei Assistenzärzten, 15 Pflegefachkräften, einer Sozialarbeiterin und einem Erzieher. Für die Eltern der jungen Langzeitpatienten stehen zwei Dolmetscher und Unterkünfte vor Ort zur Verfügung. In Greifswald werden jedes Jahr rund 500 Kinder und Jugendliche mit einer Krebserkrankung betreut. Das Forschungsteam, bestehend aus vier Wissenschaftlern, vier Technischen Assistenten, einer Studiendokumentarin und medizinischen Doktoranden, ist teilweise von der Universität, aber überwiegend aus Drittmitteln finanziert.*



#### **Foto UMG/Manuela Janke:**

*Rückenwind von der Deutschen Forschungsgemeinschaft - Dr. Nikolai Siebert will mit Prof. Holger Lode (nicht auf dem Bild) und den Doktorandinnen Madlen Marx (li.) und Maxi Zumpe in den kommenden drei Jahren die Durchschlagskraft der Greifswalder Immuntherapie weiter verbessern.*

#### **Universitätsmedizin Greifswald**

Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. Holger Lode

Sauerbruch-Straße, 17475 Greifswald

T +49 3834 86-63 01 und -63 25

E holger.lode@uni-greifswald.de

[www.medizin.uni-greifswald.de](http://www.medizin.uni-greifswald.de)

[www.facebook.com/UnimedizinGreifswald](https://www.facebook.com/UnimedizinGreifswald)

Twitter @UMGreifswald

### Molecular characterization of a new anti-idiotypic antibody for active immunotherapy in neuroblastoma

Manuela Schmidt, Diana Bracknock, Mathias Blewke, Nikolai Siebert, Holger N. Lode  
Department of Pediatric Hematology and Oncology, University Medicine Greifswald, 17475 Greifswald, Germany

**Introduction**

Disialoganglioside GD2 is a well established target for passive immunotherapy in neuroblastoma (NB) because of its high expression on NB cells. The blockade of passive immunotherapy with recombinant antibodies is hindered by a decreasing serum concentration which could be overcome by active immunization strategies. However, active immunization strategies using GD2 are limited by its immunogenicity. One approach to change the nature of the antigen is the generation of an anti-idiotypic antibody (A2TAB), which mimics the structure of GD2 (Fig. 1). Identification and sequencing of such an A2TAB would allow the design of DNA vaccines effective in induction of an active immune response against GD2.

**Methods**

**Creation of a new GD2 A2TAB called ganglidiximab:**

- immunization BALB/c mice with murine anti-GD2 antibody 14G2a
- hybridoma technology (Fig. 2)
- selection of A2TAB secreting clones (Fig. 2)
- proof of A2TAB characteristics by competitive ELISA (Fig. 3)

**Characterization of ganglidiximab**

- RNA isolation from hybridomas
- cDNA synthesis
- primer design
- amplification of DNA fragments encoding for the variable regions of the heavy (VH) and light chain (VL)
- cloning of DNA fragments encoding for VH and VL (Fig. 4)
- DNA sequencing
- identification of frameworks (Fh) and complementarily determining regions (CDRs) of ganglidiximab (Fig. 5)

**Results**

**Conclusion & Outlook**

- Proof of concept cloning of both VH and VL of ganglidiximab into mammalian expression vectors followed by transfection and expression of A2TAB as well as characterization of recombinant A2TAB by competitive ELISA.
- Induction of an active immune response against NB using ganglidiximab in an syngeneic mouse model in vivo.
- The generation and characterization of the new anti-GD2 A2TAB ganglidiximab as a surrogate antigen provides an important development of DNA vaccines against NB.

Correspondence: holger.lode@uni-greifswald.de, nicolai.siebert@uni-greifswald.de

### Generation and characterization of ganglidiximab for active immunotherapy against neuroblastoma

Christin Eger, Diana Seidel, Diana Bracknock, Mathias Blewke, Nikolai Siebert, Holger N. Lode  
University Medicine Greifswald, Pediatric Hematology/Oncology, Greifswald, Germany

**INTRODUCTION**

Passive immunotherapy targeting disialoganglioside GD2 emerges as an important treatment option for high-risk neuroblastoma (NB) patients. In order to induce an active immune response against GD2, we generated and characterized ganglidiximab, a murine anti-idiotypic antibody (anti-Id Ab) of anti-GD2 Ab ch14.18 and demonstrated induction of an active GD2-specific humoral immune response. To further tailor this response to murine variable regions in humans, we engineered a new chimeric anti-Id Ab ganglidiximab by replacing murine constant fragments with corresponding human IgG1 regions and demonstrate its GD2 surrogate function.

**METHODS**

RNA isolation from hybridomas

cDNA synthesis

primer design

amplification of DNA fragments encoding for the variable regions of the heavy (VH) and light chain (VL)

cloning of DNA fragments encoding for VH and VL (Fig. 4)

DNA sequencing

identification of frameworks (Fh) and complementarily determining regions (CDRs) of ganglidiximab (Fig. 5)

**RESULTS**

**HEAVY CHAIN**

anti-14G2a panel  
anti-14G2a panel  
anti-14G2a panel

**CONCLUSION**

Generation and characterization of ganglidiximab as a surrogate antigen provides an important development of DNA vaccines against NB.



### Generation and characterization of two single variable fragments of ganglidiximab for active immunotherapy in neuroblastoma

Diana Bracknock, Diana Seidel, Nikolai Siebert, Holger N. Lode  
University Medicine Greifswald, Pediatric Hematology/Oncology, Greifswald, Germany

**INTRODUCTION**

Disialoganglioside GD2 is a highly expressed but poorly immunogenic tumor associated antigen in neuroblastoma (NB). Protein vaccination with ganglidiximab, a new anti-idiotypic antibody (Ab) mimicking GD2, results in induction of an active immune response against GD2 in vivo. Another protein approach to induce a GD2-specific immune response might be the generation of DNA vaccines encoding for binding epitopes of ganglidiximab for purpose of DNA vaccination. In this purpose, we designed and ligated two single variable regions (VH and VL) linked by a flexible linker into a pCMV3 expression plasmid.

**RESULTS**

**Fig. 2 - Configuration of scFv**

**Fig. 4 - Detection of scFv protein expression**

**Fig. 6 - Confirmation of anti-idiotypic characteristics**

**CONCLUSION**

Generation and characterization of two single variable fragments of ganglidiximab as a surrogate antigen provides an important development of DNA vaccines against NB.

Funded by Kind-Philipp-Stiftung für pädiatrisch-onkologische Forschung  
Correspondence: holger.lode@uni-greifswald.de, diana.bracknock@uni-greifswald.de