

SolidCAR-T:

Modulare Minifabriken zur autonomen Produktion von CAR-T Zellen

Projektziele

CAR-T Zelltherapien in der individualisierten Behandlung von Patienten mit akuten Leukämien und Lymphomen sind ein Meilenstein in der Krebstherapie. Eine Herausforderung stellt der nicht standardisierte, überwiegend manuelle Produktionsprozess dieser Zellen als auch der bislang wenig effektive Einsatz dieser Zellen bei soliden Tumoren dar.

Im Rahmen des Projektes soll die Grundlage geschaffen werden, CAR-T Zellen mit Hilfe einer modularen „Minifabrik“ in standardisierter Form und mit hoher Qualität an dezentralen Einrichtungen wie Universitätskliniken zu erzeugen. Anhand des Gallengangskarzinoms sollen die Laborprozesse, die für eine gezielte, personalisierte Immunzelltherapie erforderlich sind, entwickelt und Teilschritte (genetische Modifikation und Expansion) im Sinne einer „Minifabrik“ nach Vorbild der Industrie 4.0 automatisiert werden. Darüber hinaus sollen neue Testverfahren für den Nachweis der Wirksamkeit (in vitro) sowie für die in-line Qualitätskontrolle entwickelt werden.

Beteiligte Partner

- Universitätsklinikum Tübingen (UKT)
- Fraunhofer-Institut für Produktionstechnik und Automatisierung (IPA)
- Naturwissenschaftliches und Medizinisches Institut an der Universität Tübingen (NMI)
- Begleitet durch Vertreter der Industrie im Rahmen eines Industriebeirates

Vorhabenverlauf



Abbildung 1: Kompetenzen der Partner im Projekt sowie deren Zusammenspiel.

Im Rahmen des Projekts arbeitet das UKT an der Etablierung und Optimierung der Herstellungsprozesse von CAR-T-Zellen zur Behandlung des Gallengangkarzinoms. Das Fraunhofer IPA verantwortet die Entwicklung von Automatisierungslösungen für die Teilprozessschritte „Genetische Modifikation“ und „Expansion“ in Form einer modularen Minifabrik. Die Kernaufgabe des NMI im Projekt besteht in der Entwicklung neuer Testverfahren für die Qualitätssicherung der Zellprodukte.

Erzielte Ergebnisse/Technologiereifegrad

Prozessetablierung

Die Prozessetablierung der manuellen Herstellung von CAR-T Zellen wurde am UKT durchgeführt. Hierfür wurde zunächst das Oberflächenmolekül CD276 als Target für eine CAR-T Zelltherapie beim Cholangiozellulären Karzinom etabliert. Nach der Definition der System- und Modulgrenzen und Bestimmung der CCPs konnten die Protokolle für die manuelle Herstellung ausgearbeitet werden. Neben der Herstellung von CAR-T Zellen wurde insbesondere auch die manuelle Herstellung von lentiviralen Vektoren etabliert, die ursprünglich nicht im Projektplan vorgesehen war. Alle Einzelprozessschritte wurde erfolgreich etabliert und ein entsprechendes Produkt etabliert, welches an drei Anwendungsfällen im Menschen im Rahmen von individuellen Heilversuchen verwendet werden konnte.

Automatisierung

Im Rahmen von SolidCAR-T wurde am IPA der Grundstein für den Aufbau einer geschlossenen, modularen Minifabrik für die Produktion von Gen- und Zelltherapeutika gelegt. Dem modularen Ansatz liegt die Idee zu Grunde, dass einzelne Prozessschritte

in verschiedenen Modulen abgebildet werden. Hierdurch können Prozesse flexibel zusammengestellt werden. Während des Prozesses befinden sich die Zellen in sogenannten Kassetten, die nach und nach die benötigten Module durchlaufen.

Zu Beginn des Projektes wurde in enger Abstimmung mit den Prozesseignern am UKT der manuelle Herstellprozess der CAR-T-Zellen auf ein automatisiertes, modulares Produktionssystem übertragen. Hierbei wurden zum einen Prozessparameter aufgenommen, zum anderen wurden Kerntechnologien identifiziert, die für eine automatisierte Produktion notwendig sind. Die im Rahmen des Projektes entwickelten Kernkomponenten sind:

- Mehrfach verwendbarer Sterilkonnektor (Transfer des Zellproduktes und weiterer im Prozess benötigter Flüssigkeiten zwischen zwei Gefäßen, Probennahme; TRL: 4)
- Modifikationskammer und Inkubationsbereich (Aktivierung, genetische Modifikation und initiale Kultivierung der Zellen; TRL: 5)
- Expansionskammer und Inkubationsbereich (Expansion der Zellen bis hin zur für die Therapie benötigten Zellzahl; TRL: 4)
- Kühlbereiche (Lagerung von im Prozess benötigten Flüssigkeiten; TRL: 4)

Die Modifikationskammer wurde erfolgreich am UKT mit primären T-Zellen getestet. Die einzelnen Kernkomponenten wurden in die Modifikationskassette (passiv) bzw. das Modul (aktiv) integriert, die den Modifikationsprozess vollständig abbilden können. Die Kassette sowie das Modul wurden am IPA aufgebaut und stehen für die Weiterentwicklung zur Verfügung.

Qualitätssicherung

Parallel zur Prozessetablierung, Produktion und Automatisierung wurde durch das NMI im SolidCAR-T-Projekt die Entwicklung von Methoden zur Qualitätssicherung und Einschätzung der therapeutischen Wirksamkeit von CAR-T Zellprodukten adressiert. Die folgenden Verfahren wurden erfolgreich etabliert:

- Spontane Raman Spektroskopie (RMS) und multivariate Datenanalyse zur Unterscheidung funktioneller CAR T- und Nicht-CAR T-Zellen anhand Phänotyp-spezifischer Raman Signaturen (TRL: 4)
- Überwachung der Mediumzusammensetzung (Glukose-, Laktat-, und Glutamin-Konzentration) von CAR-T-Zell-Produktionskulturen durch RMS (TRL: 4)
- DigiWest-basierte Proteinanalyse des Aktivierungszustands von CAR-T-Zellprodukten unter Verwendung eines Panels aus 9 Biomarkern (TRL: 4)

- Patientenabgeleitete Mikrotumore aus Tumorfrischgewebeproben zur Prüfung der funktionellen Effizienz von CAR-T-Zellprodukten in statischer Co-Kultur (Zytotoxizität, proinflammatorische Aktivierung; TRL: 4)
- Mikrofluidisches Tumor-on-chip Modell aus patientenabgeleiteten Mikrotumoren, Endothelzellen und perfundierten CAR-T-Zellprodukten zur Prüfung der Wirksamkeit von CAR-T-Zellprodukten (Zytotoxizität, proinflammatorische Aktivierung, Tumordinfiltration; TRL: 4)

Patientenabgeleitete Mikrotumore wurden sowohl in statischer Zellkultur als auch im Tumor-on-chip Modell erfolgreich zur Testung der therapeutischen Effizienz von CAR-T-Zell-Populationen eingesetzt, die in der vom Projektpartner IPA entwickelten Modifikationskammer in den Laboren des Projektpartners UKT hergestellt wurden. Das Tumor-on-chip Modell sowie die zugehörigen Methoden zur Raman- und DigiWest-basierten Qualitätskontrolle sind für die Weiterentwicklung der CAR-T-Produktionsplattform verfügbar.

Mögliche Anwendungsfelder/Nutzen für die Wirtschaft

Durch die dezentrale Produktion können langfristig die Produktionskapazitäten flexibel und schnell an den tatsächlichen Bedarf sowie neueste wissenschaftliche Erkenntnisse angepasst werden. Damit profitieren die Patienten schneller von den neuen Therapien. Insbesondere der direkte Kontakt des Behandlers zum „Produktionszentrum“ verbessert die Chance möglichst vielen Patienten den Zugang zu den CAR-T Studien und zukünftig zu den Therapien anbieten zu können.

Durch die konsequente Weiterführung der mit dem Projekt wachsenden Vernetzung zwischen Forschungseinrichtungen, Kliniken und lokalen Unternehmen wird sich ein Produktionsökosystem entwickeln. Wissend, dass dieses Projekt erst ein erster Anfang ist, besteht das langfristige Ziel darin, ein komplettes Wertschöpfungsnetz aus Komponenten-, Software-, Anlagen-, Sensorikherstellern auf der einen Seite und Anwenderexperten auf der anderen Seite aufzubauen, so dass sich die Herstellungsketten komplett aus der Region abdecken lassen. Gleichzeitig schafft dies für die beteiligten Forschungspartner das notwendig Bedarfsknowhow, um Forschungsergebnisse zielgerichtet transferieren zu können. Als Keimzelle des Produktionsökosystems ist die Etablierung eines Landesentrums für Personalisierte Zell- und Gentherapien in Baden-Württemberg für die Herstellung und Bereitstellung von Arzneimitteln für neuartige Therapien geplant.