

1. Zusammenfassung

Das Hodgkin-Lymphom (M. Hodgkin, HL) ist eine maligne Erkrankung des Lymphsystems. Diagnostisch wegweisend ist der histologische Nachweis von Reed-Sternberg- und Hodgkin-Zellen. Therapeutisch sind in den letzten Jahrzehnten durch Kombination von Chemo- und Radiotherapie große Fortschritte erreicht worden, so dass das Hodgkin-Lymphom heute für einen Großteil der Patienten zu einer heilbaren Erkrankung geworden ist. Nachteil der Therapie ist die hohe Toxizität mit einem signifikanten Anteil an therapieinduzierten Sekundärneoplasien. Außerdem sind die therapeutischen Optionen sowie die Erfolgsrate im Rezidivfall begrenzt.

Die Immuntherapie könnte eine Lösung dieses Problems darstellen, da diese Therapieform eine deutlich geringere Langzeittoxizität aufweist und zusätzlich zu den bereits etablierten Therapien eingesetzt werden kann.

In den letzten Jahren wurden zwei klinische Studien mit einem anti-CD16/anti-CD30 bispezifischen Antikörper bei Patienten mit Rezidiv eines Hodgkin-Lymphoms durchgeführt. Eine Patientengruppe, die ansonsten gegenüber den Standardtherapeutika resistent war, zeigte hier eine Ansprechrate von 30 %. In den beiden Studien konnten allerdings keine Parameter identifiziert werden, die eine optimale Antikörperdosierung, Applikationsintervalle oder eine Vorhersage über ein positives Ansprechen zuließen.

Um die möglichen Biodistributionseigenschaften von bispezifischen Antikörpern in Patienten genau zu evaluieren, führten wir diese detaillierte Analyse der Bindungseigenschaften durch und stellten an einem Tiermodell die *In-vivo*-Charakteristika dieser Antikörper dar. Für diesen Zweck wurden die elterlichen Antikörper HRS-3 (anti-CD30) und A9 (anti-CD16) sowie der bispezifische Antikörper BimAb (anti-CD16/anti-CD30) entweder mit ^{125}I oder ^{111}In radioaktiv markiert. Die Stabilität und Bindungseigenschaften der Antikörper nach der Markierung wurden mit Inhibitionstestreihen, Scatchard-Plot und Lindmo-Analysen bestätigt. ^{111}In markierte Antikörper zeigten überlegene Targeting-Eigenschaften in einem Standard SCID-Mausmodell. Der bivalente monoklonale elterliche anti-CD30 HRS-3-Antikörper und der monovalent bindende bispezifische anti-CD16/antiCD30 BimAb-Antikörper zeigten eine ausgezeichnete Aufnahme in CD30-positiven Tumoren. Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Antikörpern bestand nicht (max. Uptake $16,44\% \pm 4,2$ versus $18,4\% \pm 3,8\%$ injizierte Dosis/Gramm Gewebe). Die äquivalenten Bindungseigenschaften des bispezifischen Antikörpers BimAb im Vergleich zum elterlichen Antikörper HRS-3 ermutigen zur weiteren Entwicklung dieser bispezifischen Antikörper. Zudem stellen die erhobenen Biodistributionsdaten eine technische Grundlage dar, um Dosierung und Applikationsintervalle dieser neuartigen Therapie zu optimieren.

1. Summary

Hodgkin's Lymphoma (Hodgkin's disease, HL) is a malignant disease of the lymphatic system. The proof of CD30 positive Reed-Sternberg and Hodgkin cells are decisive for diagnosis. Important therapeutic advances have been achieved over the last decades through the combination of chemotherapy and radiation. For most patients Hodgkin's lymphoma has become a curable disease. The negative effects of this therapy are toxicity and secondary malignant neoplasms induced by primary treatment. Additional therapeutic options and prognosis are limited for patients suffering relapses.

Immunotherapy might indeed constitute an effective approach to the problem given its lower long-term toxicity and compatibility to established chemotherapies and radiation therapies.

Two clinical trials were performed in patients with Hodgkin's Lymphoma using an anti-CD16/anti-CD30 bispecific antibody. The results demonstrated a 30% response rate in a group of patients otherwise resistant to standard therapeutic modalities. No surrogate markers of optimal antibody dosage or application interval, or predictive for favorable response could be identified in these trials. In order to accurately evaluate the potential biodistribution properties of this bispecific antibody in patients, we performed a detailed *in-vitro* analysis of the binding properties and *in-vivo* animal model characteristics for these constructs. For this purpose, the parental antibodies HRS-3 (anti-CD30), A9 (anti-CD16) and the bispecific antibody BimAb (anti-CD16/anti-CD30) were radiolabeled with either ^{125}I or ^{111}In . Antibody integrity and binding properties after labeling were confirmed by Scatchard plot and Lindmo analysis. ^{111}In -labeled antibodies revealed superior targeting properties in a standard SCID mouse tumor model. Both the bivalent parental anti-CD30 monoclonal antibody and the monovalent anti-CD16/anti-CD30 bispecific antibody showed excellent uptake in CD30+ tumors which did not significantly differ between HRS-3 and BimAb (max. uptake $16.5\% \pm 4.2\%$ vs. $18.4\% \pm 3.8\%$ injected dose/gram tissue). The equivalent targeting properties of the bispecific antibody compared with the parental anti-CD30 antibody encourages the further clinical development of this bispecific antibody. The biodistribution analysis thus provides the technical foundation for further optimization of this new therapy with regard to dosage and application intervals.