

CRISPR-Base-Editing für maßgeschneiderte Tumorbekämpfung

Gezielte genetische Manipulation der Signaltransduktionswege in CAR-T-Zellen erhöht Antitumor-Wirksamkeit

Die vielversprechende chimäre Antigenrezeptor-(CAR)T-Zelltherapie kommt bisher fast ausschließlich bei fortgeschrittenen malignen Erkrankungen des blutbildenden Systems zum Einsatz. Forschende des Tübinger Exzellenzclusters iFIT haben mithilfe der CRISPR-Base-Editing-Technologie gezielt Punktmutationen in zentrale Signalwege der CAR-T-Zellen eingebracht und verbessern so den Langzeitschutz und auch die Wirksamkeit gegenüber soliden Tumoren.

Die seit 2018 in Europa zugelassene CAR-T-Zelltherapie bietet bei bestimmten Formen von Blutkrebs gute Heilungschancen, selbst wenn Chemotherapien und Stammzelltransplantationen erfolglos waren. Körper eigene T-Lymphozyten werden dabei gentechnologisch so verändert, dass sie Tumorzellen anhand charakteristischer Merkmale erkennen und effektiv vernichten können. Allerdings ist das personalisierte Verfahren nicht nur zeit- und kostenintensiv, sondern kann zudem schwere Nebenwirkungen verursachen. Bei soliden, also im festen Gewebeverband wachsenden Tumoren, die die Mehrheit der Krebserkrankungen ausmachen, ist es zudem bisher kaum wirksam.

Maßgeschneiderte Tumorerkennung

Während die von B-Lymphozyten sezernierten Antikörper gegen Strukturen außerhalb bzw. auf der Oberfläche von Körperzellen gerichtet sind, spüren T-Lymphozyten Veränderungen innerhalb der Zellen auf – sei es als Folge eines Virusbefalls oder aufgrund von Mutationen. Ermöglicht wird dies durch sogenannte HLA-(Human Leukocyte Antigen)-Klasse-I-Moleküle, die kurze Fragmente intrazellulär synthetisierter Proteine binden und auf der Zelloberfläche präsentieren. Werden erregerspezifische oder abnormale Proteine in der Zelle produziert, erscheinen entsprechende körperfremde Peptide auf den HLA-Molekülen und können von T-Lymphozyten mithilfe ihres T-Zell-Rezeptors (TCR) erkannt werden. Kommt ein co-stimulierendes Signal dazu, z. B. über das Oberflächenprotein CD28, wird eine zytotoxische Immunreaktion ausgelöst.

Tumorzellen können dem Immunsystem allerdings entgehen, indem sie die Anzahl ihrer HLA-Peptid-Komplexe auf der Oberfläche herunterregulieren. Die CAR-T-Zell-Therapie kombiniert deshalb funktionelle Eigenschaften der B- und T-Lymphozyten und ermöglicht so eine HLA-unabhängige Erkennung von Krebszellen. Dafür werden autologe (also körpereigene) T-Lymphozyten der Betroffenen gentechnologisch so modifiziert, dass sie einen synthetischen chimären Antigen-Rezeptoren (CAR) auf der Oberfläche tragen. Dieser besteht aus einer antikörperähnlichen Erkennungsdomäne, die an spezifische Proteine (Antigene) auf der Tumorzelle binden kann. Ein membrandurchspannender Teil verbindet die Erkennungsdomäne mit einer co-stimulatorischen Signaldomäne sowie einer Domäne des TCR, die für die intrazelluläre Signalweiterleitung benötigt wird. Dies führt dazu, dass allein die Antigenerkennung durch den CAR ausreicht, um die zytotoxische Signalkaskade auszulösen.

Trotz hoher initialer Ansprechraten ist der langfristige Effekt der Therapie leider häufig ungenügend. „Wir arbeiten daran, die Wirksamkeit von CAR-T-Zellen zu verbessern und ihre Anwendung auf solide Tumoren auszuweiten“, erklärt Dr. Philip Bucher aus der Gruppe Zelluläre Immuntherapien für Krebs von Prof. Dr. Judith Feucht am Universitätsklinikum Tübingen. Im Rahmen der über das Exzellenzcluster „Image-guided and Functionally Instructed Tumor Therapies“ (iFIT) finanzierten Forschung werden die Signalwege innerhalb von Immunzellen untersucht und manipuliert. Ziel ist es, die Entwicklung von langlebigen Gedächtniszellen im Körper zu fördern und so die CAR-T-Zelltherapie zu verbessern.

PI₃K-Signalweg als Ansatzpunkt für gezielte Feinjustierung



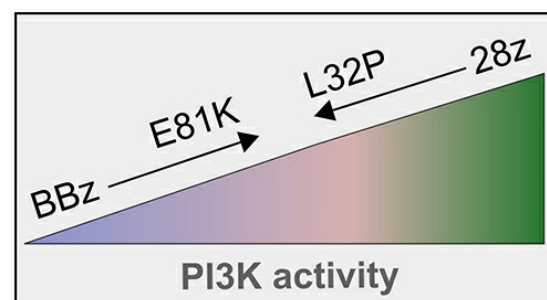
Dr. Philip Bucher und weitere Mitglieder der Arbeitsgruppen von Prof. Dr. Judith Feucht und Jun. Prof. Dr. Josef Leibold bringen gezielt genetische Veränderungen in die Signalwege von CAR-T-Zellen ein, um die Bildung von langlebigen Gedächtniszellen zu fördern und dadurch die Effektivität der Therapie zu steigern.
© P. Bucher

Zu diesem Zweck kooperierten die Forschenden eng mit der Gruppe Funktionelle Immunogenomik von Jun. Prof. Dr. Josef Leibold und nutzten ein neuartiges Verfahren, das sogenannte CRISPR-Base-Editing. Hiermit lassen sich gezielt Punktmutationen ins Zellgenom einführen. Das Team konzentrierte sich dabei auf den in allen Körperzellen aktiven PI3K/AKT-(Phosphatidylinositol-3-Kinase/Aktivierung Kinase)Signalweg, der eine zentrale Rolle bei der Steuerung des Zellteilungszyklus spielt und somit essenziell für Wachstum sowie Differenzierung ist. Je nach Gewebetyp werden verschiedene Isoformen des PI3K-Enzyms synthetisiert, in Lymphozyten dominiert beispielsweise PI3Kdelta (PI3Kd).

Die Aktivierung von PI3Kd durch das Molekül CD28 ist entscheidend für die Vermehrung und Reifung der T-Lymphozyten nach Antigenkontakt, weshalb viele CAR-Konstrukte die co-stimulatorische Domäne dieses Proteins enthalten. Alternativ wird eine funktionelle Domäne des 4-1BB-(CD137)Proteins genutzt, die u. a. über den Transkriptionsfaktor NFkB eine andere proliferationsfördernde Signalkaskade auslöst.

„Um die Aktivität von PI3Kd zu modulieren, haben wir gezielt den Bereich der katalytischen Proteinuntereinheit ausgewählt, welcher mit der regulatorischen Untereinheit

ROADSTAR



Die ROADSTAR-Plattform erlaubt das Einbringen präziser genetischer Veränderungen in Zellen. Durch die E81K-Mutation in BB-CAR-T-Zellen (BBz) bzw. die L32P-Mutation in 28-CAR-T-Zellen (28z) wird die Aktivität der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) in beiden Zelltypen auf ein mittleres Level reguliert.

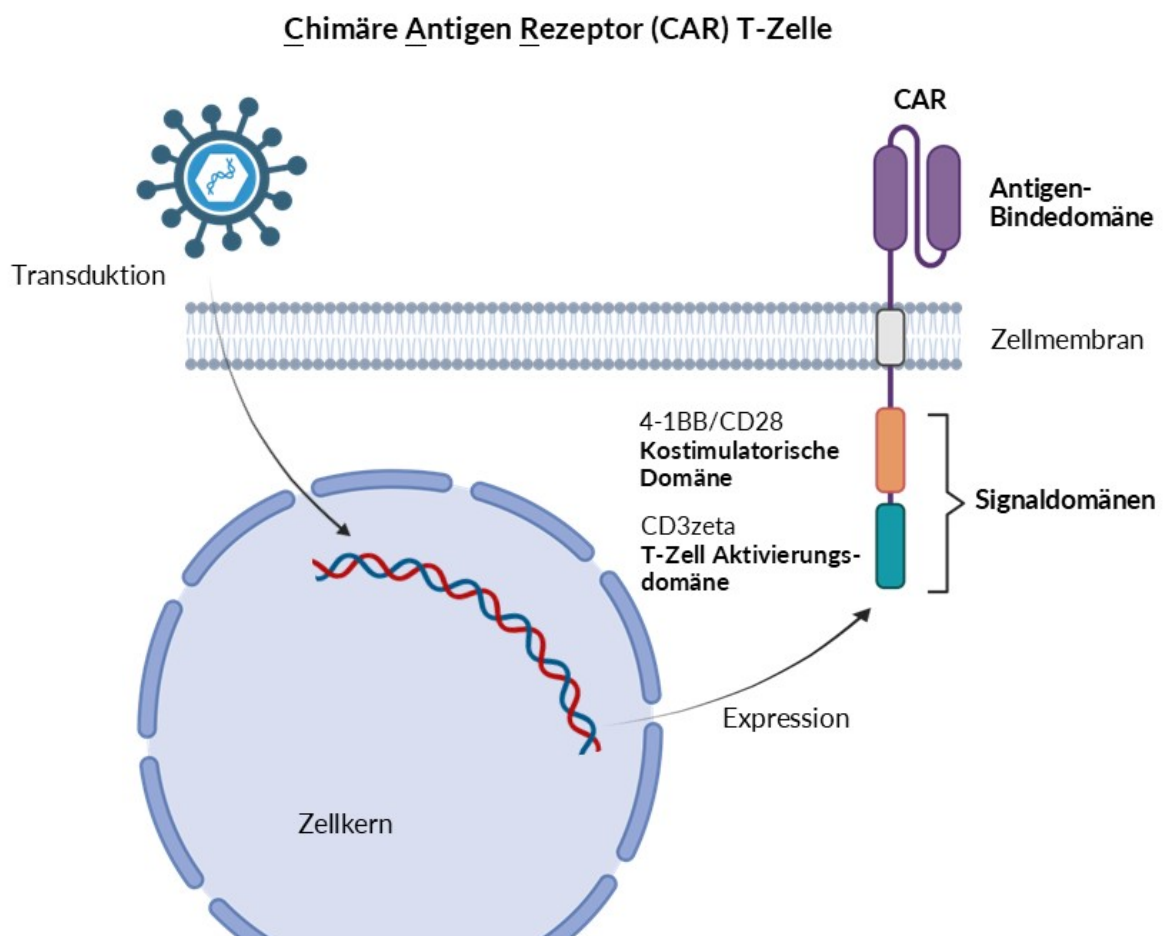
Quelle: <https://doi.org/10.1038/s43018-025-01099-7>, P. Bucher, CC-BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), bearbeitet von R. Menßen-Franz

interagiert“, schildert der Biochemiker die Strategie. „Mithilfe unserer ROADSTAR-Plattform (Rational Optimization of Activation-dependent Signaling via Targeted Allelic Reprogramming) konnten wir für beide CAR-Varianten jeweils einen Pool an mutierten Zellen generieren. Durch die anschließende Stimulation mit Tumorzellen gelang es uns dann, zwei sehr interessante Punktmutationen zu identifizieren.“

Das Ziel ist funktionale Persistenz

Die vielversprechenden Ergebnisse wurden Anfang 2026 veröffentlicht.¹⁾ Eine Veränderung der Aminosäure Leucin an Position 32 zu Prolin (L32P) in CAR-T-Zellen mit co-stimulatorischer Domäne von CD28 (28-CAR-T-Zellen) schwächt den PI3Kd-Signalweg ab. Dies steigert das Proliferationspotenzial der Zellen und stärkt langfristig die Antitumor-Wirkung. Der Forscher erläutert: „Häufig ist das initiale Ansprechen bei CAR-T-Zelltherapien sehr gut. Aber wenn der Tumor nach einigen Jahren zurückkehrt, existieren kaum Gedächtniszellen, die ihn kontrollieren können. Durch die Mutation steigern wir die funktionale Persistenz. Das heißt, nach Erstkontakt mit dem Antigen differenzieren die Zellen nicht so stark aus und ermüden weniger, sodass sie bei erneutem Tumorkontakt besser proliferieren und die Tumorzellen attackieren können.“

Im Vergleich zu 28-CAR-T-Zellen haben solche mit einer co-stimulatorischen Domäne von 4-1BB (BB-CAR-T-Zellen) per se eine geringere Effektorfunktion und bilden eher Gedächtniszellen. Bei ihnen verstärkt der Austausch von Glutaminsäure an Position 81 zu Lysin (E81K) den PI3Kd-Signalweg und erhöht so die initiale Zytotoxizität gegenüber Tumorzellen. Im Tiermodell bieten sie zudem einen noch stärkeren Langzeitschutz.



Mithilfe viraler Vektoren wird der genetische DNA-Bauplan, der für den chimären Antigenrezeptor kodiert, in die autologen T-Zellen der Patientinnen und Patienten eingeschleust (Transduktion). Der in der Zellmembran verankerte CAR besteht aus einer extrazellulären Antigen-Bindedomäne sowie intrazellulären Signaldomänen.

© P. Bucher, erstellt mit BioRender.com

Hoffnung für Behandlung von soliden Tumoren

Die Wirkung beider Mutationen wurde nicht nur im Leukämiemodell untersucht, sondern auch an Tieren mit metastasierendem Neuroblastom, einem sehr aggressiven soliden Tumor. Aufgrund ihrer verbesserten funktionalen Persistenz sind die neuartigen CAR-T-Zellen den gängigen Ansätzen hier ebenfalls deutlich überlegen. Die Ergebnisse belegen klar, dass gezielte molekulare Eingriffe in zelluläre Signaltransduktionswege die Effektivität der CAR-T-Zelltherapie erheblich steigern können und sich dadurch neue Perspektiven eröffnen.

Die Gruppen von Feucht und Leibold werden beide über iFIT finanziert, den einzigen onkologischen Exzellenzcluster

Deutschlands. In den Bereichen Funktionelle Targetidentifizierung und molekulare Tumorthérapien, Immuntherapien sowie Molekulare und funktionelle multiparametrische Bildgebung arbeiten mehr als 200 Forschende eng zusammen. Diese Kooperationen sowie die hervorragende technische Ausstattung erleichtern den Transfer innovativer Methoden auf neue Fragestellungen und ermöglichen so besonders komplexe Forschung.

Infobox: CRISPR-Base-Editing

Im Unterschied zur Genschere CRISPR/Cas9, die den DNA-Doppelstrang an der Zielsequenz vollständig durchtrennt und so das Entfernen bzw. Einfügen von Nukleotiden ermöglicht, wird bei der CRISPR-Base-Editing-Technologie nur ein Strang geschnitten. Eine modifizierte Cas9-Endonuklease ist hier mit einer Deaminase verbunden, die von einem Nukleotid, das auf dem der Schnittstelle gegenüberliegenden Strang liegt, eine Aminogruppe entfernt. Aus Cytosin entsteht so Uracil, bzw. Adenin wird zu Inosin deaminiert. Der entstandene Mismatch (U:G bzw. I:T) wird anschließend entweder durch die zelleigenen Reparaturmechanismen wieder behoben oder die Sequenz dauerhaft zu T:A bzw. G:C verändert. Je nachdem, welcher Strang über die guide RNA adressiert wird, lassen sich prinzipiell alle Basenaustausche realisieren.

Literatur:

1) Bucher P. et al. (2026): CAR-adapted PIK3CD base editing enhances T cell anti-tumor potency. Nature Cancer 7(2),368-383. <https://doi.org/10.1038/s43018-025-01099-7>

Fachbeitrag

16.07.2026

Dr. Ruth Menßen-Franz

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

Weitere Informationen

Dr. Philip Bucher

Arbeitsgruppe Zelluläre Immuntherapien für Krebs

Universitätsklinikum Tübingen

Hoppe-Seyler-Straße 3

72076 Tübingen

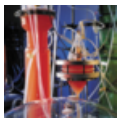
E-Mail: Philip.bucher@med.uni-tuebingen.de

► [Feucht Leibold](#)

[Lab](#)

► [Exzellenzcluster iFIT](#)

Der Fachbeitrag ist Teil folgender Dossiers



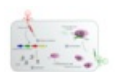
Biotechnologie als Innovationsmotor der pharmazeutischen Industrie



Krebstherapie und Krebsdiagnostik



Zell- und Gentherapien: Aus der Forschung in die Klinik



CRISPR/Cas – das Genome Editing ist en vogue



Arzneimittel für neuartige Therapien: Gen- und Zelltherapeutika

[Krebs](#)

[Gentherapie](#)

[Leukämie](#)

[Therapie](#)

[Zelltherapie](#)

[Krebsimmuntherapie](#)

[CRISPR/Cas](#)