

# Lebende Krebsmedikamente für Alle: Technologische Souveränität durch automatische Pharmaproduktion

Ulrike Köhl

16.03.2023 | Mainz | PharmaForum

# Offenlegung

---

- Kooperation Herstellung:  
Miltenyi Biotec (CD20-CAR-Time)  
Novartis (CTL019 European study trial & Kymriah®)
  
- Consulting:  
AstraZeneca, Affimed, Glycostem, GammaDelta, Zelluna

# Herausforderungen und Perspektiven

---

- CAR-T-Zellen: „Lebende Krebsmedikamente“  
Herstellung, Qualitätskontrolle und Logistik
- Automatisierung und Upscaling – Produktion 4.0
- Neue Technologien – Technologische Souveränität



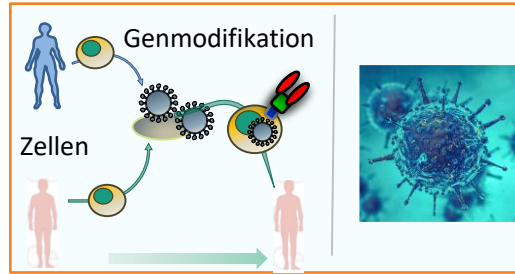
# Die Medizin der Zukunft

## Heute - Linderung



- Chemische Substanz
- Kontinuierliche Einnahme
- Linderung von Symptomen

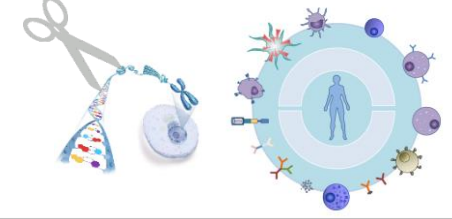
## Präzisionsmedizin



- Zell- und Gentherapie
- Ex vivo Manipulation der Immunzellen

## Morgen - Heilung

### Genomchirurgie & Gentherapie

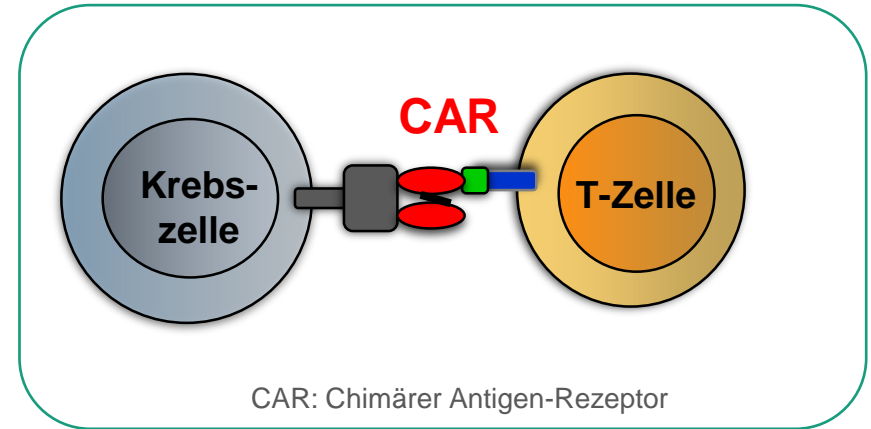


- Einmalige Behandlung
- Korrektur der Ursache
- Langanhaltende Wirkung

**Immunzellen (CAR-T-Zellen...): Heilung von Krebs-** bis zu den großen Volkskrankheiten

# Präzisionsmedizin gegen Krebs

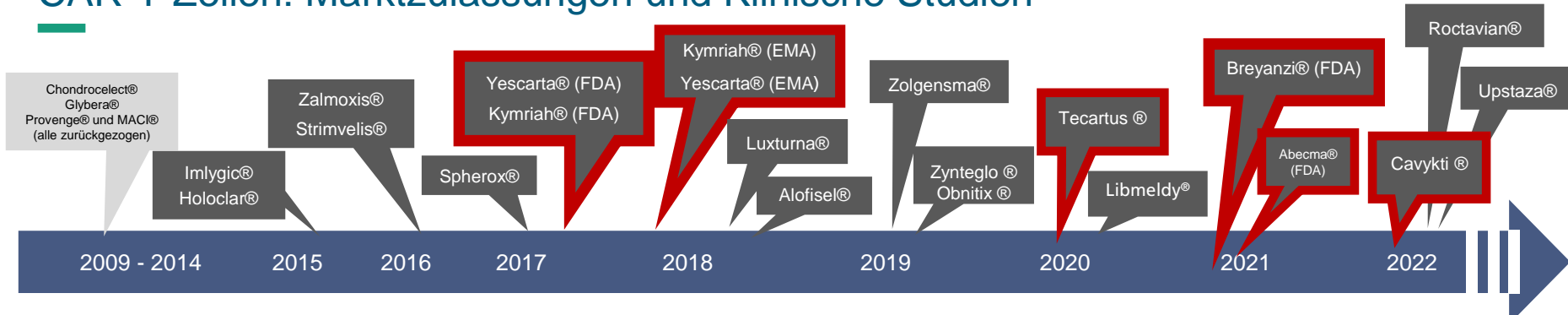
## Einsatz von CAR-T-Zellen



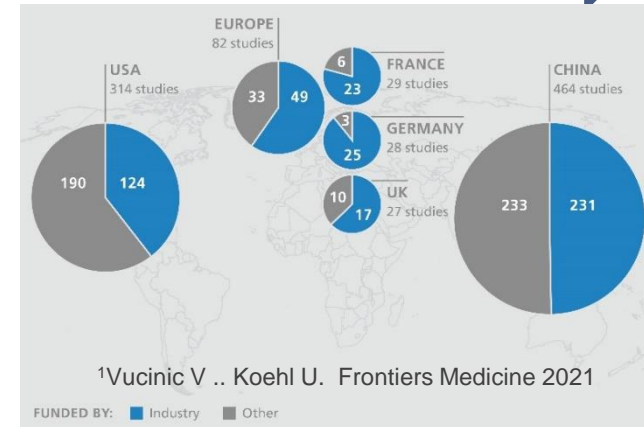
- Weltweit große Erfolge bei CD19+ hämatologischen Erkrankungen (ALL, DLBCL)
- CAR-T-Zelltherapien bei hochmalignen Tumoren: 100-fach mehr Patienten
- Neuerdings auch Einsatz von CAR-T-Zellen bei Autoimmunerkrankungen\*

# Zeitalter der Zell- und Gentherapien

## CAR-T-Zellen: Marktzulassungen und Klinische Studien



- 6 Marktzulassungen (anti-CD19-, anti-BCMA- CAR-T-Zellen)
- Derzeit weltweit > 1200 klinische Studien, 90% in USA & China weniger als 10% in Europa, ~ 5% in Deutschland<sup>1\*</sup>
- Marktprognose ATMP & CAR-T-Zellen: ~10-15 Mrd. USD bis 2024<sup>#</sup>, ~200 Mrd. € bis 2026<sup>+</sup>



# CAR-T-Zellherstellung: Dezentral und zentral

## Eigene Erfahrungen

### Zentrale, akademische Herstellung

- Phase I-IV- Studien bis Übergang kommerziell – CAR Pipeline (Akademie & Industrie)
- Fraunhofer IZI: großes GMP-Team (105 Mitarbeitende | 14 Reinräumen) – höchster Standard  
Beispiel: CTL019-Studie/ Kymriah® (Fraunhofer IZI – Koop. Novartis) > 500 CAR-T-Zell-Produkte<sup>1</sup>

Hohe technologische Plattform → viele Patienten



### Dezentrale, akademische Herstellung

- Frühe Phase I/IIa- Studien
- nur möglich durch ausreichend geschultes und trainiertes Personal

Beispiel:

- 1) CD20 CAR T-Zellen<sup>2,3</sup> – Herstellung an der MHH  
Erfahrung im Team: 200 Stammzellprodukte & > 80 virus-spezifische T-Zellprodukte/ Jahr
- 2) ROR1 CAR T-Zellen mit Sleeping Beauty Techn. – Herstellung am IZI (Koop. M. Hudecek\*)

Schnelle Umsetzung neuer Innovationen über Akademie

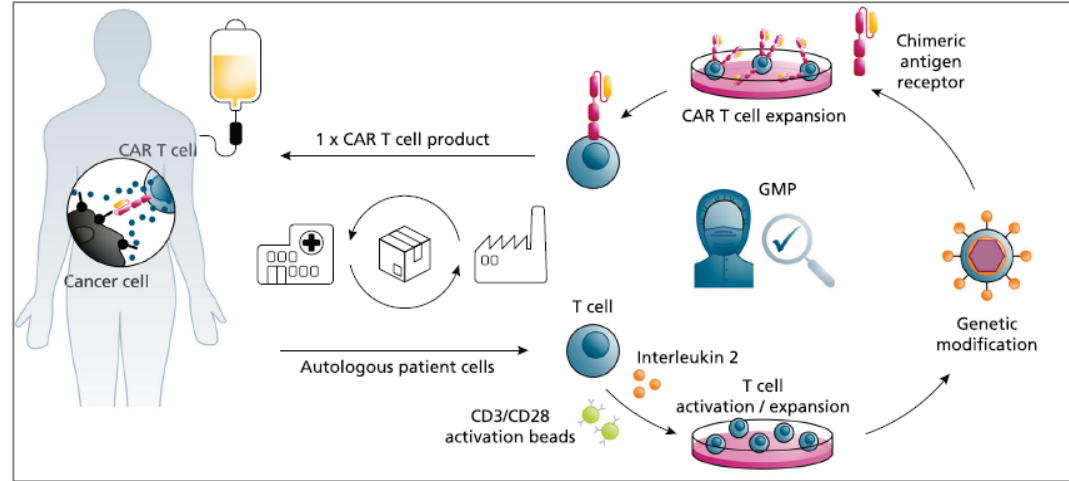


# Herstellung von CAR-T-Zellen: Aktueller Stand der Technik

Weltweit übliches Verfahren#: **Manuell bis teil-automatisiert**

Prozessschritte: 1. Stimulation  
2. Transduktion  
3. Expansion  
4. Formulierung

- Herstellung im Median **12 Tage** (7-22)\*  
(Aktuell: Prozessverkürzungen)
- Komplexe Qualitätskontrolle
- Zugelassene Produkte > ¼ Mio €
- **Hoher personeller Trainingsaufwand**  
(Herausforderung für kleine akademische Einheiten)



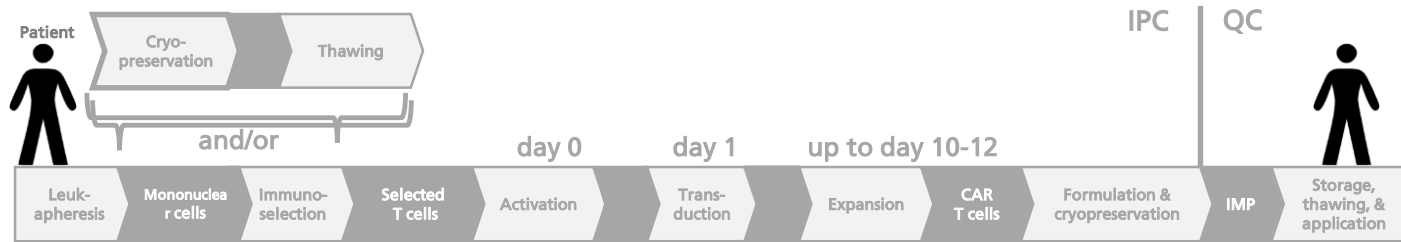
Blache U, Popp G, Dünkel A, Koehl U & Fricke S. Nature Communication 2022

➡ **Komplex, zeitaufwendig & kostenintensiv**



# Komplexe Qualitätskontrolle (QC) der CAR-transduzierten T-Zellen

Eingangskontrollen, In-prozess-Kontrollen (IPC), freigaberelevante QC & Begleituntersuchungen



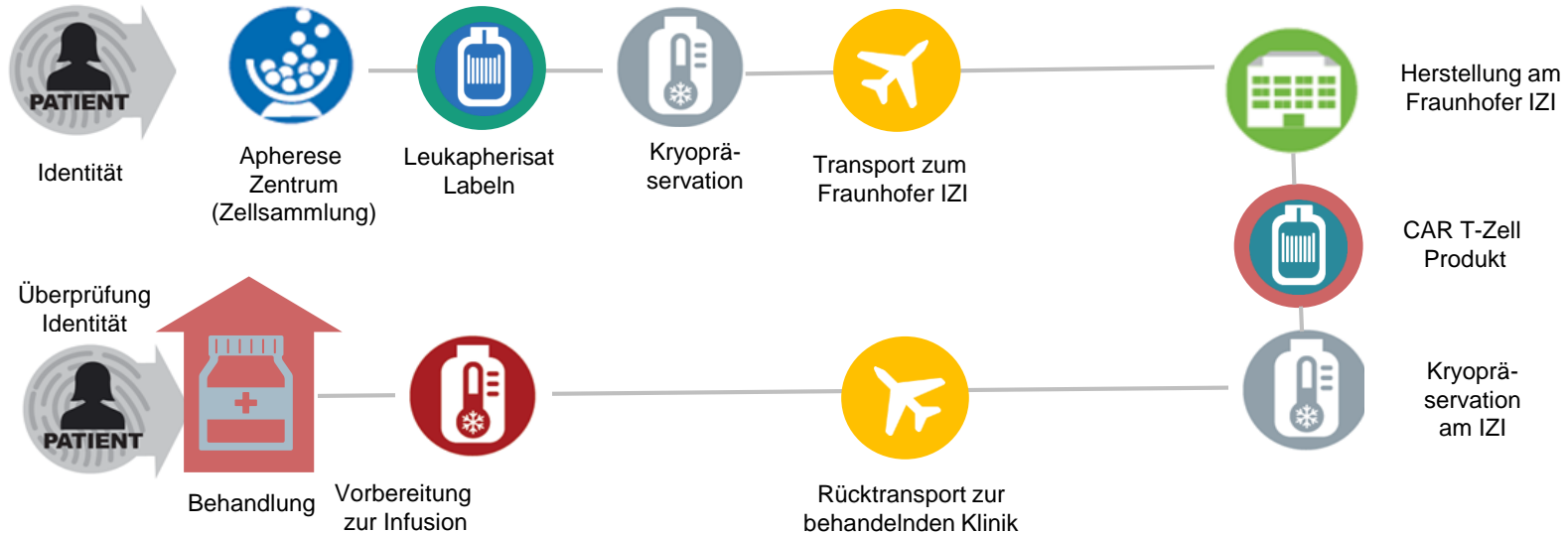
- Aussehen & Beschreibung
- Identität
- Mikrobiol./Mykopl.-Kontrolle
- Reinheit /Unreinheit
- CAR-Expression
- Quantität
- Funktionalität

## Exemplarisch:

- EP 2.7.23 Flowzytometrische Analyse
- EP 2.6.21 Realtime PCR: VCN (vector copy number)
- EP 2.6.14 Bakteriolog. Endotoxin Test
- EP 2.6.27 Mikrobiologische Kontrolle
- EP 2.6.21 Mykoplasmen



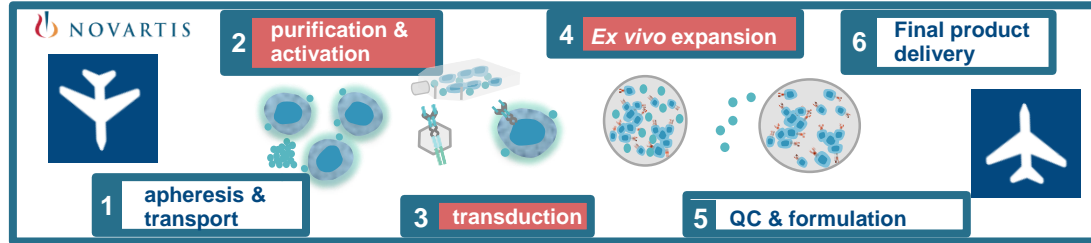
# Aufwendige Logistik



- Transport und Herstellung von CAR-T-Zellen erfordert interdisziplinäre Zusammenarbeit
- Vein-to-vein time (dezentral – zentral): 2- 6 Wochen

# Optimierung Herstellungsprozess

## Beschleunigte Herstellung mit neuartiger T-Charge™ Plattform



Produkt	1	2	3	4	5	6	Total
Tisagenlecleucel	1 day	1 day	2 day	7-8 days	9 day	1 day	21-22 days
T-Charge™ platform	1 day	1 day			9 days	1 day	12 days*

- Vereinfachte Herstellung < 2 Tage, keine in-vitro Expansion der Zellen
- Verkürzung der *Vein-to-vein time* auf 12 Tage (inkl. 9 Tage für QC)

### ➔ Hochwirksame CAR-T-Zellen

- verbesserte *in-vivo* Expansion und längere Persistenz
- akzeptables Nebenwirkungsprofil

### Konventionelle Herstellung:

- Hauptsächlich zentrale Gedächtnis-T-Zellen mit einigen Effektor- und Effektor-Gedächtnis-T-Zellen

Höherer Grad an Seneszenz und Effektor-Funktion, kürzere Lebensdauer<sup>1</sup>

### T-Charge™ Plattform<sup>3-6</sup>:

- Mehr naive T-Zellen und T-Gedächtnis-Stammzellen (T<sub>SCM</sub>) im Endprodukt
- weniger erschöpfte T-Zellen
- Bewahrt die Stammzeleigenschaft der T-Zellen → führt zu verbesserter *in-vivo* Expansion und Antitumoraktivität<sup>2</sup>

Höhere Potenz, Proliferation, Persistenz und klinische Wirksamkeit<sup>2-6</sup>

Studien: YTB323 (anti-CD19) [NCT03960840](#)  
PHE885 (anti-BCMA) [NCT05172596](#)

# Herausforderungen und Perspektiven

- CAR-T-Zellen: Lebende Krebsmedikamente  
Herstellung, Qualitätskontrolle und Logistik
- Automatisierung und Upscaling – Produktion 4.0
- Neue Technologien – Technologische Souveränität



# Automatisierung des Herstellungsprozesses

## Dezentrale POC-Herstellung von CAR-T-Zellen

### CliniMACS Prodigy® track record List of selected publications and clinical studies



46 +  
SCIENTIFIC PAPERS  
& REPORTS

#### Manufacturing optimization & pre-clinical data:

- Different enrichment strategies (CD62L and CD4/CD8), cultivation strategies (IL-2 and IL-7/IL-15) and transduction strategies (retrovirus and lentivirus) (Mock, 2016; Priesner, 2016)
- Fresh and frozen starting product (Shah, 2020)
- Shortening CAR T process to 8 days (Zhang, 2019)
- IPC, QC, functional tests, phenotyping (Mues, 2020)
- Combined in-line electroporation and lentiviral delivery (Alzubi, 2020)

180 +  
CLINICAL TRIALS  
WORLDWIDE

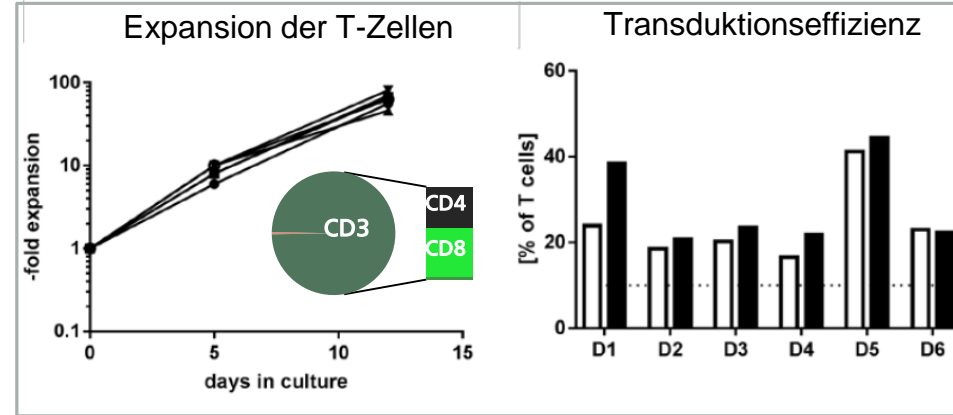
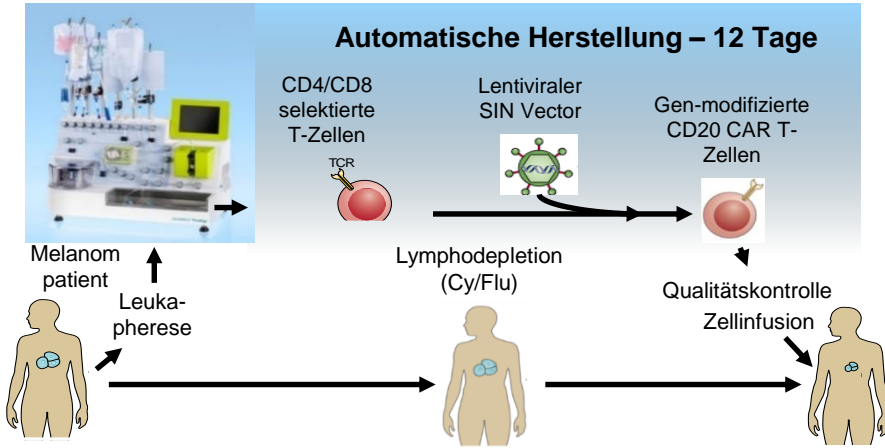
#### Phase I/II clinical trial studies:

- Bispecific anti-CD20/anti-CD19 CAR-T for relapsed B-cell malignancies (NCT03019055)
- Autologous CD19 CAR-T for NHL (NCT03434769)
- Switchable universal CAR-T for CD123-positive leukemia (NCT04230265)
- Activated NK cells for sarcomas (EudraCT 2016-003578-42)
- Antigen-specific T Cell Therapy for AML or MDS patients NCT04284228)
- Antigen-specific T cell therapy for myeloma (NCT04505813)

# Automatisierte Herstellung von CAR-T-Zellen

## Eigene Erfahrungen

### Automatische Herstellung – 12 Tage



### Multizentrische Studie (BMBF): Rezidivierendes Melanom Stage III/IV

- Koop.: Miltenyi Biotec (Sponser)  
H. Abken (Forschung)/ U. Köhl (Herstellung)
- Klinische Studie „3+3“ Design (frische Applikation)
- **Bisher: 8 Patienten behandelt**

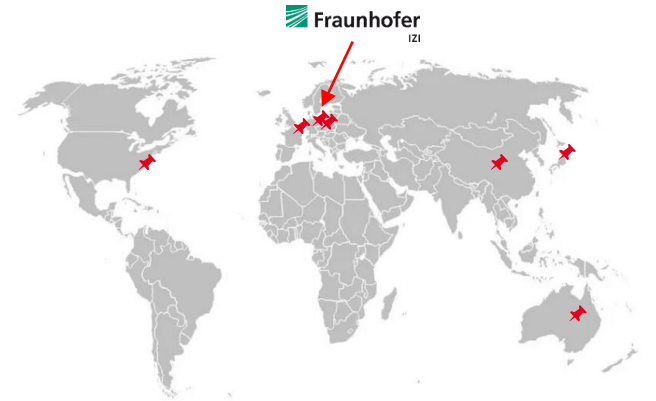
### Automatisierte Herstellung:

- **Homogene Expansionsrate**  
Median:  $6 \times 10^9$  Gesamt T-Zellen
- **Erfolgreiche Transduktionseffizienz**

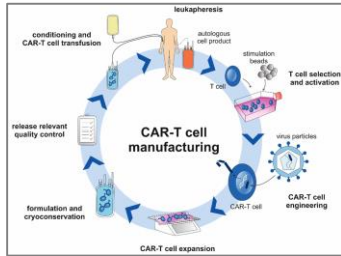
# Kommerzielle zentrale Produktion von CAR-T-Zellen

Versorgung vieler Patienten gewährleisten

- **Kapazität erhöhen** (Novartis +124% 2019 vs. 2021)
- **Logistik und „turnaround time“ reduzieren**  
(Vein-to-vein time (dezentral – zentral): 2- 6 Wochen)
- **Novartis weltweit 7 Hersteller auf 4 Kontinenten**  
(> 6000 Patienten in über 33 Ländern mit Kymriah® versorgt)\*
- **Kite neben USA neue Produktionsstätte in Niederlanden**  
(> 6600 Patienten weltweit mit Yescarta® und Tecartus® versorgt)\*



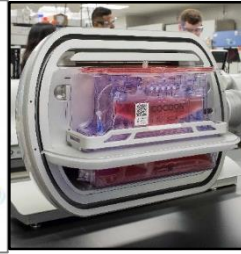
# Von der manuellen Produktion zur automatischen, KI-gesteuerten und digital kontrollierbaren modularen Produktionsstraße



Manuelle Fertigung



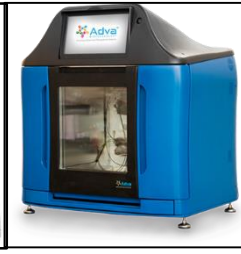
CliniMACS Prodigy®  
Miltenyi Biotec



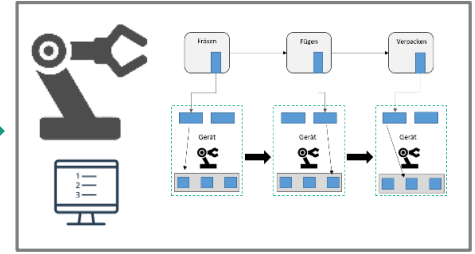
Cocoon® Platform  
Lonza



Sefia Cell Processing  
Cytiva



ADVA X3™  
ADVA Biotechnology



zentrale Produktion

✓ Step 1: Halb-automatisch zu vollautomatisch

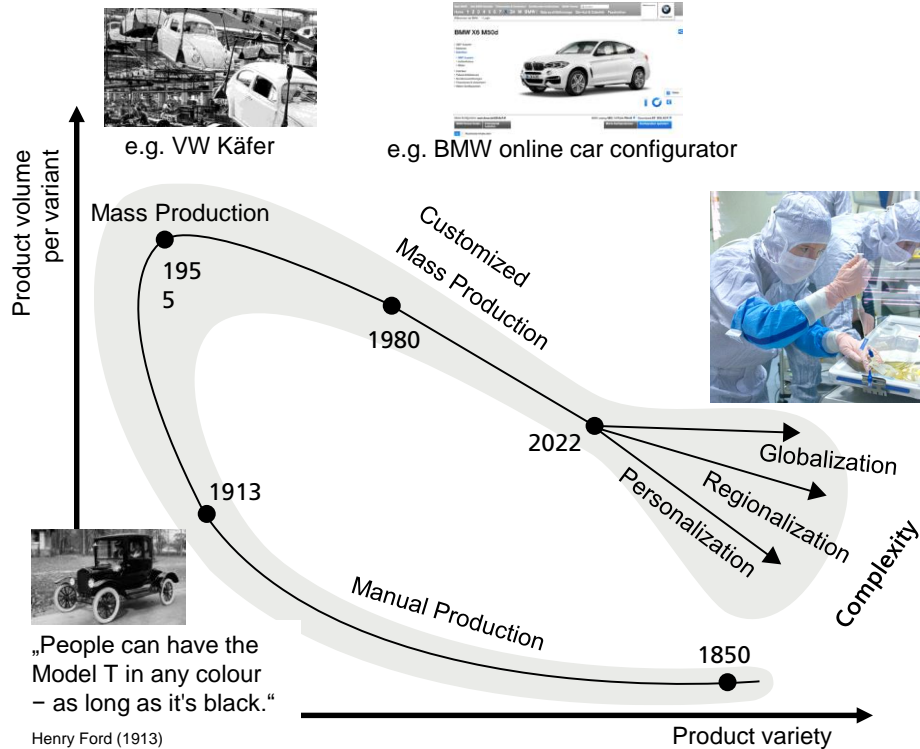
**Aber: Es fehlen noch Konzepte um 100-fach mehr Patienten zu adressieren**  
(notwendig: Von hämatologischen zu onkologischen und anderen Erkrankungen)

- Robotik/ Modular/ Skalierbar: **Konzept Industrie 4.0**



# Massenproduktion

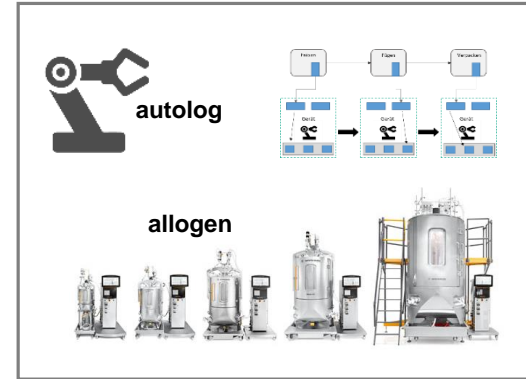
## Technologische Souveränität



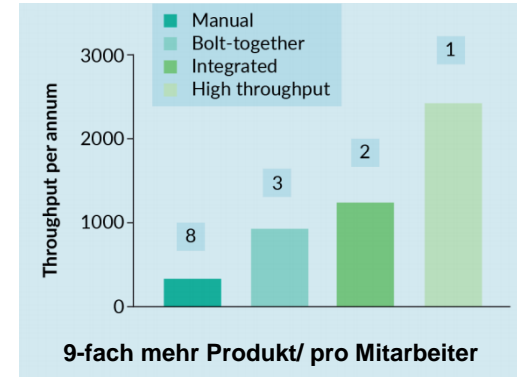
### Automatisierung



### Personalisierte Produktion



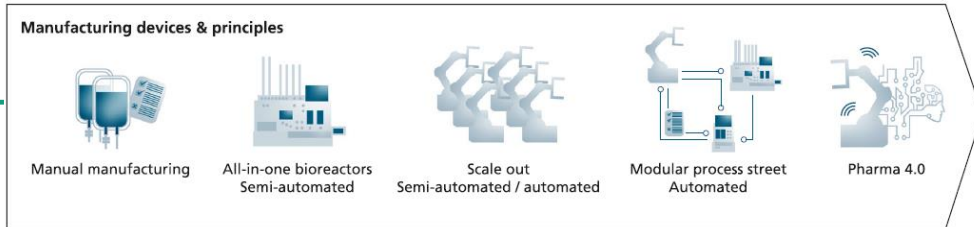
### KI-gesteuert, Robotik, Prozessstraßen



# Zukunftsfähige technische Konzepte für die Qualitätskontrolle

- Fortschritte in der Fertigung erfordern ebenso neue technische Lösungen in der Qualitätskontrolle
- Entwicklung und Umsetzung muss in enger Abstimmung mit den Aufsichtsbehörden erfolgen

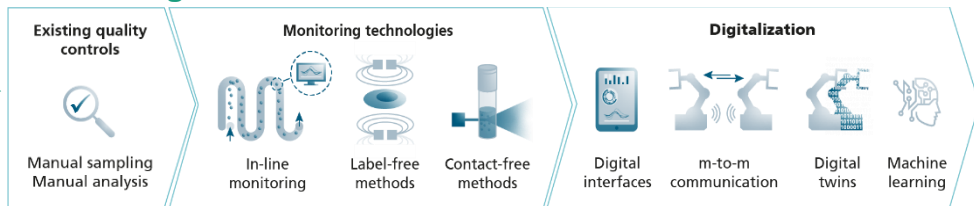
## Produktion



## Aktuell:

- Manuelle Probennahmen und zeitaufwändige Analysen
- Basis QC-Parameter (z.B. Zellzahl, Vitalität, Reinheit, CAR-Expression)
- Bioreaktoren – nur wenige integrierte Parameter zu Kulturbedingungen (Gas, Temperatur, ph-Wert)

## Technologien für die Qualitätskontrolle



## Künftige Anforderungen:

- Echtzeitüberwachung und Inline-Technologien (nicht-invasiv, kennzeichnungsfrei, kontaktfrei)
- Automatisierte Prozessüberwachung, digitale Kommunikation & KI, adaptiver Prozessstrategie

# Blick auf Trends in der Qualitätskontrolle und Patientenüberwachung

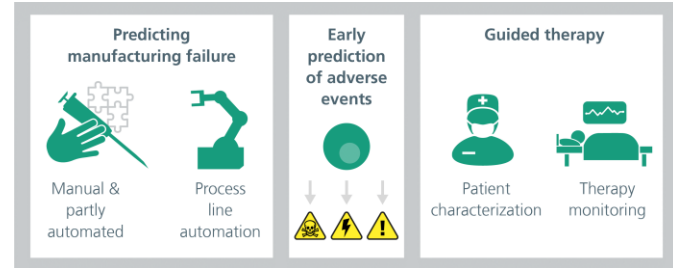
## Begleitende Studien mit Omics, RNAseq und fortschrittlicher Durchflusszytometrie



### Factors influencing autologous lymphocyte collections for chimeric antigen receptor (CAR) T-cells – the role of T-cell senescence

Vladan Vucinic, T. Tumewu, M. Brückner, M. Jentsch, F. Ramdohr, R. Buhmann, Y. Remane, S. Hoffmann, M. Janz, O. Penack, G. Vogtmann, E. Buschpler, L. Bullinger, U. Keller, M. Cross, S. Schwind, M. Herling, G-N. Franke, E. Bach, R. Henschler, U. Platzbecker

University Hospital Leipzig Medical Center, Clinic and Policlinic of Hematology, Celltherapy and Hemostaseology



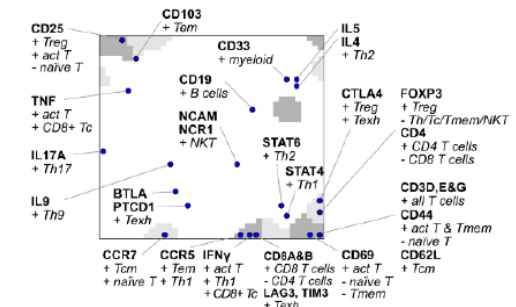
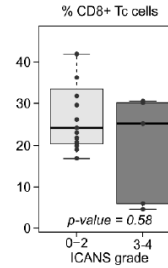
Seliger B ... Koehl U. Immuno-Oncology Insights 2021  
Seliger B & Koehl U. Frontiers Immunology 2022

## Advanced Flow Cytometry Assays for Immune Monitoring of CAR-T Cell Applications

Ulrich Blache<sup>1,2\*</sup>, Ronald Weiss<sup>2\*</sup>, Andreas Boldt<sup>2\*</sup>, Michael Kapinsky<sup>3</sup>, André-René Blaudszun<sup>1</sup>, Andrea Quaiser<sup>1</sup>, Annabelle Pohl<sup>2</sup>, Tewfik Miloud<sup>4</sup>, Mégane Burgaud<sup>4</sup>, Vladan Vucinic<sup>5</sup>, Uwe Platzbecker<sup>5</sup>, Ulrich Sack<sup>2†</sup>, Stephan Fricke and Ulrike Koehl<sup>1,2,6†</sup>

Frontiers Immunology 2021

## Transcriptomics and neurotoxicity (ICONS)



Loeffler-With H .... Koehl U, Reiche K. Frontiers Immunology in press



# Herausforderungen und Perspektiven

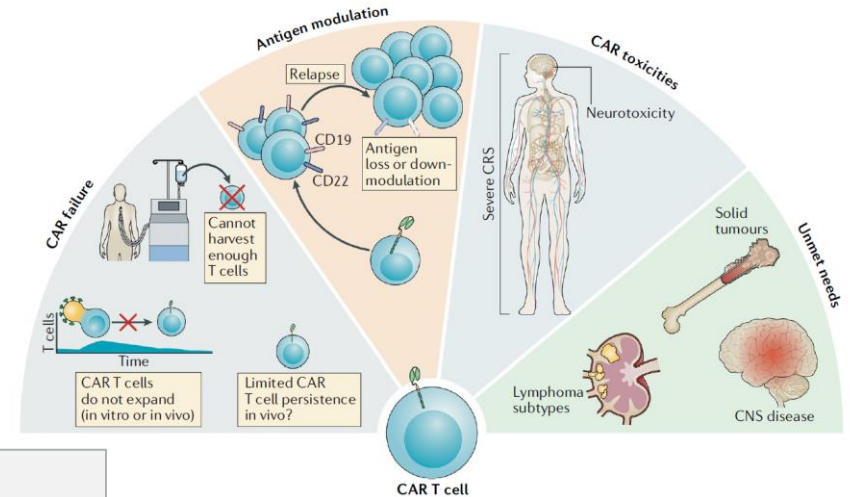
---

- CAR-T-Zellen: Lebende Krebsmedikamente  
Herstellung, Qualitätskontrolle und Logistik
- Automatisierung und Upscaling – Produktion 4.0
- Neue Technologien – Technologische Souveränität



# Limitationen bei personalisierter CAR-T-Zelltherapie

- Ausfallraten bei CAR-T-Zell-Herstellung (Juliet, Zuma-1, Eliane ...): **1-12%**<sup>1-4</sup>, tlw. Angaben bis zu **17%**  
**Warum? Stark vorbehandelte Patienten:**
  - (i) limitierte KM Funktion,
  - (ii) gering funktionale / erschöpfte T-Zellen,
  - (iii) Faktoren beeinflussen Lymphozytenmobilisierung
- Rezidiv durch transduzierten leukämischen Klon während des Herstellungsprozesses<sup>5</sup>



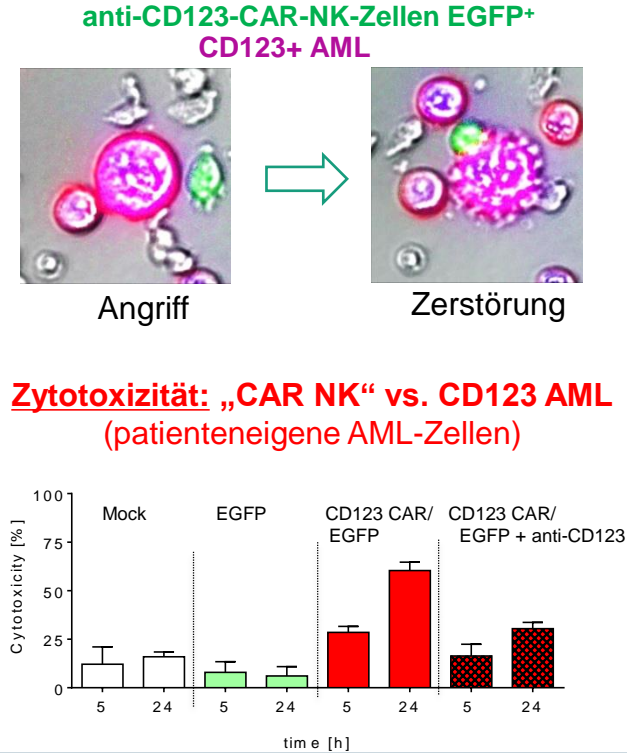
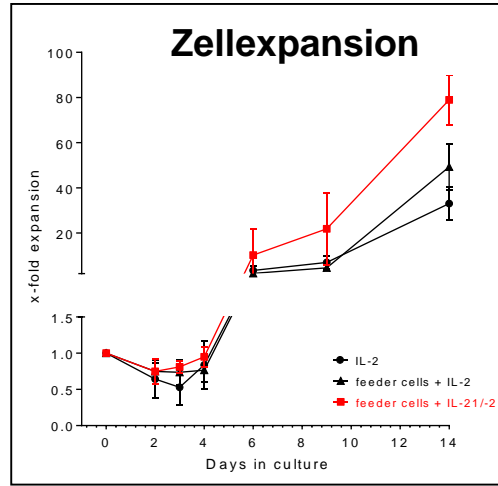
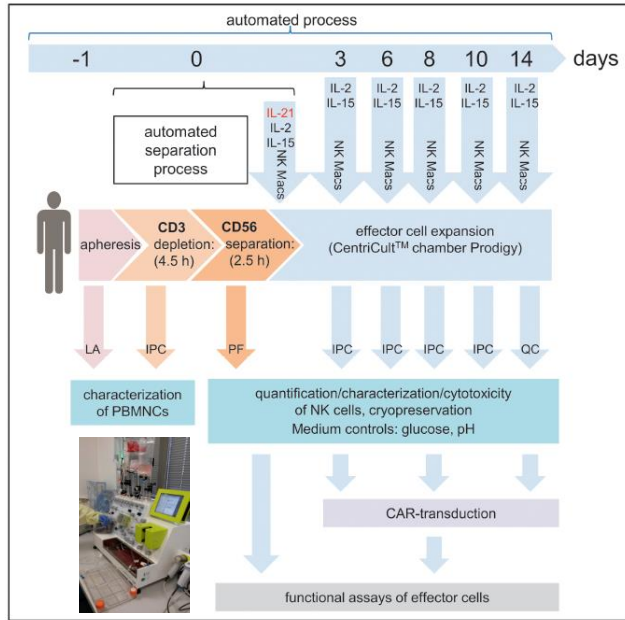
Lyu et al. Nature Reviews Clinical Oncology 2020

## Alternative Strategien:

- Allogene genom-editierte UCART<sup>6</sup>
- **Allogene CAR-NK-Zellen, CAR-Makrophagen...**

# Neue Formate: Von autologen zu allogenen CAR-Effektor-Zellen

## Eigene Arbeiten: Allogene CAR NK-Zellen

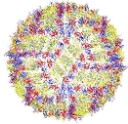


# Neue Strategien zur genetischen Modifikation

## Vom viralen zum nicht viralen Gentransfer für CAR-Effektorzellen

### Virale Vektoren

Lentiviral/  
retrovirale Vektoren



genomische Integration  
stabile Expression

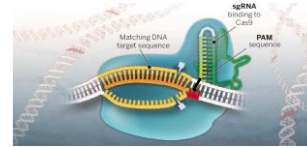
Adeno- ssoziierte  
Viren (AAV)



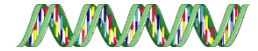
extra chromosomal/ episomal  
transiente Expression

### Nicht viraler Gentransfer

CRISPR-Cas,  
Talen, ZFN



Plasmide  
DNA/RNA



Risiko für Genotoxizität

Herstellungskosten

## Frühe Translation durch vernetzte Technologien (PIs: 38 Akademie & 13 Industrie)

Komplette Wertschöpfungskette

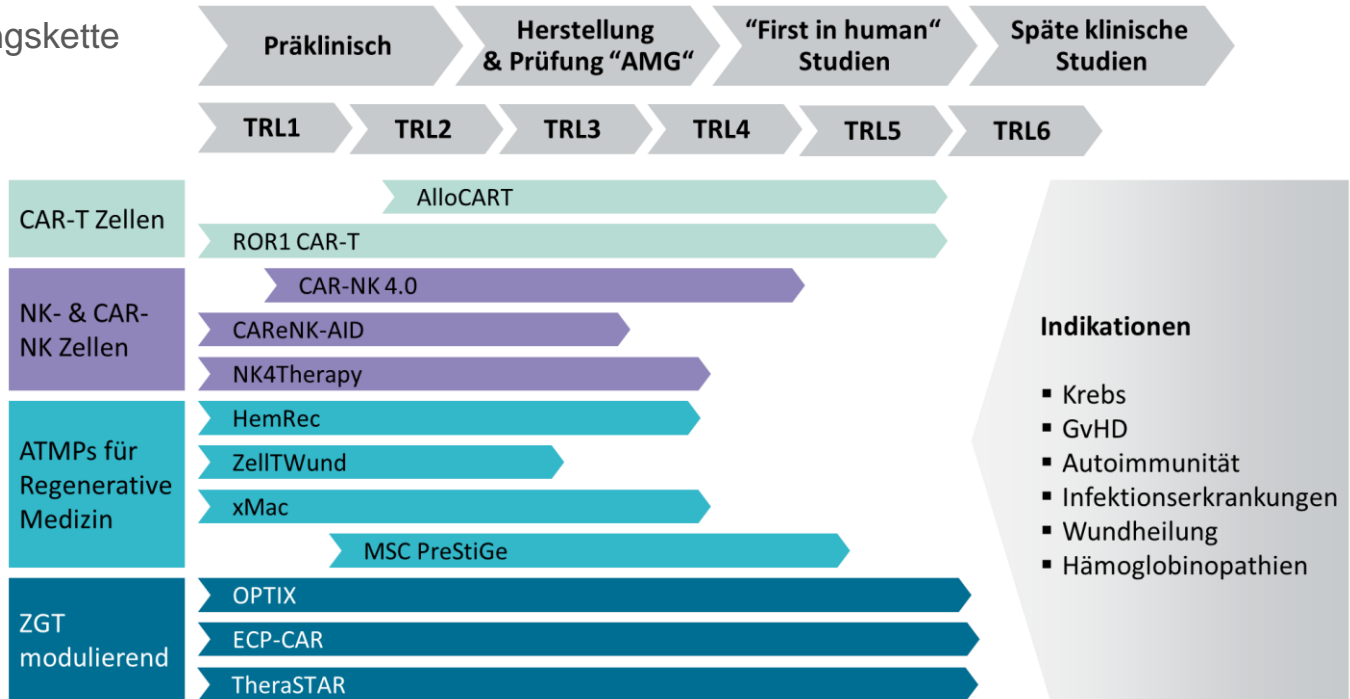
**Automatisierung**  
**Robotik**  
**Künstliche Intelligenz**

**Virale Vektoren:**

- AAVs

**Nicht viraler  
Gentransfer:**

- Genom-Editierung/  
Designer-Nukleasen  
- Sleeping-Beauty  
- mRNA



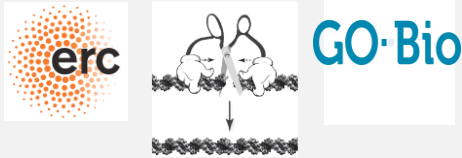


# SaxoCell

## Zusätzlicher Nutzen durch Inter- und Transdisziplinarität

### Designer-Recombinase

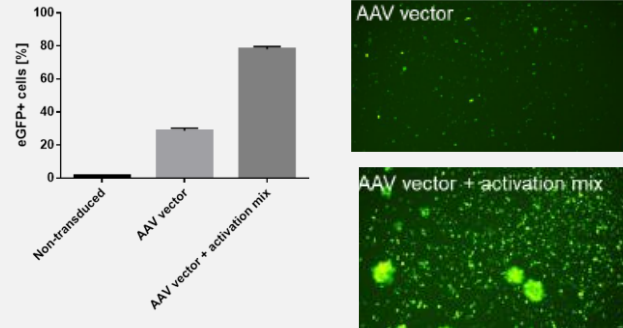
- Universelle Applikation („off the shelf“)



RECTECH  
PRECISION GENOME SURGERY

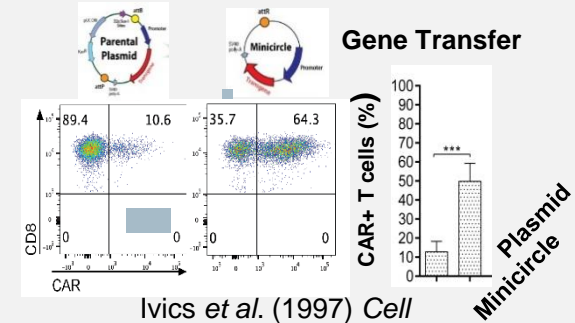
### Plattform allogener CAR-NK-Zellen

- Mono und bi-spezifische NK-Zellen
- NK-Zellen und mAB
- AAV (patentiert)-basierte CARs
- Intrazelluläre Optimierung



### Nicht-viraler Gentransfer

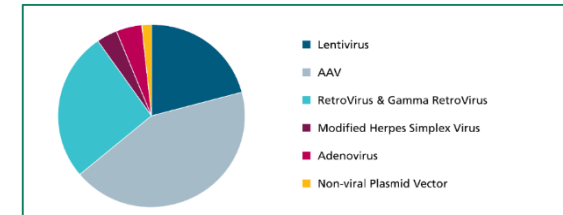
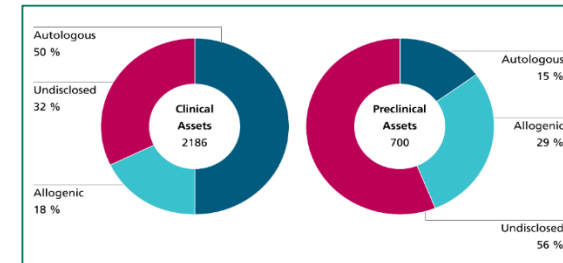
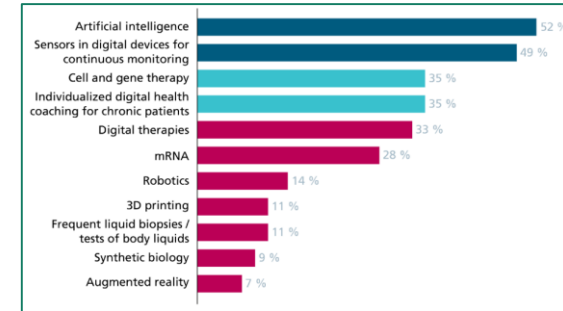
- Sleeping Beauty (SB) Technologie (patentiert)
- Nächste Generation SB I Erhöhtes Sicherheitsprofil
- Neuer CRISPR/Cas9 Safety switch



# Zusammenfassung und Ausblick

- Technologische Souveränität: Automatisierung der Produktionsverfahren; Industrie 4.0 (Robotik, Digitalisierung, KI)
- Von autologen zu allogenen CAR-Effektorzellen (z.B. CAR-NK-Zellen)
- Preisgünstiger und sicherer Gentransfer: Von viral → AAV → nicht viralem Gentransfer
- Transdisziplinäre Forschung in großen Netzwerken stärken → Überwinden von Innovationslücken → Überführen in die klinische Anwendung

**Ziel: Bezahlbare Zell- und Gentherapien für alle Patienten**



# Danke

## Fraunhofer IZI, Leipzig, D

G. Schmiedeknecht S. Ulbert S. Fricke  
K. Kebbel D. Kuhlmeier A. Quaiser  
J. Lehmann T. Grunwald K. Reiche  
D. Schmiedel U. Blache A. Dünkel

## Cellular Therapeutics, MHH Hannover, D

R. Esser L. Arseniev S. Klöss  
W. Glienke K. Aleksandrova J. Leise

## Clinical Immunology, Univers. Leipzig, D

U. Sack S. Hauschildt M. Friedrich  
A. Boldt R. Weiss A. Granert

## Tumorimmunology, Regensburg, D

H. Abken

## Internal Medicine, University Würzburg, D

H. Einsele M. Hudecek

## Kantons-Spital Basel, CH

J. Passweg

## Experimental Haematology, MHH, D

A. Schambach M. Morgan H. Büning

## BSD Hessen/BW und BSD Ost, D

E. Seifried C. Seidl T. Tonn

## Pediatric Hematol/ Oncol., Frankfurt, D

T.Klingebiel E.Ullrich P.Bader S.Hünecke

## Hematology & Cell Therapy, UKL, D

U. Platzbecker V. Vucinic M. Merz  
P. Lückemeier K. Metzeler M. Herling

## University Cancer Center Leipzig, D

F. Lordick U. Hacker

## Haematol. /Oncol./ SCT, MHH, D

A. Ganser M. Heuser M. Eder C. Könecke

## Transfusion Med., UKL, Leipzig, D

R. Henschler

## Transfusionsmedizin, AKH, Wien, D

N. Worel

## Paul Ehrlich Institut, Langen, D

Z. Ivics

## MDC, Berlin, D

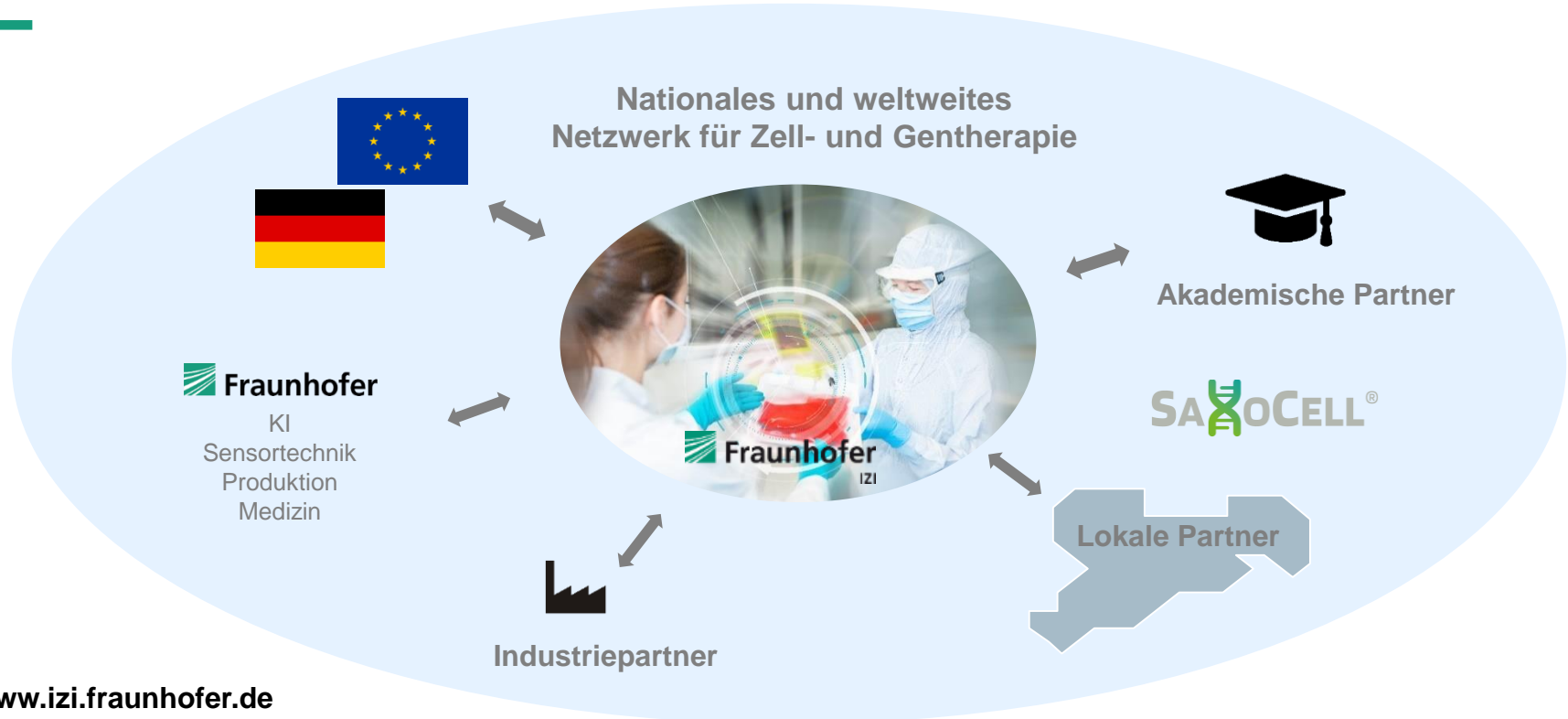
Z. Ivics

## Georg Speyer House Frankfurt, D

W. Wels



# Danke für Ihre Aufmerksamkeit



[www.izi.fraunhofer.de](http://www.izi.fraunhofer.de)

Kontakt: [ulrike.koehl@izi.fraunhofer.de](mailto:ulrike.koehl@izi.fraunhofer.de)