



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Identifikation neuer HLA-A*0201-restringierter T-Zell-Epitope, die sich aus dem Cancer-Testis-Antigen Lage-1 herleiten

Autor: Christina Birgit Wagner
Institut / Klinik: Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie und
Klinische Kooperationseinheit für Dermato-Onkologie (DKFZ)
Doktorvater: Prof. Dr. S. Goerdts

Das maligne Melanom ist ein bösartiger, von den Melanozyten ausgehender neuroektodermaler Tumor mit früher Metastasierungstendenz und infauster Prognose. Eine vielversprechende Therapiealternative stellt die Immuntherapie dar, die auf der Vakzinierung mit immunogenen Peptiden bzw. mit Peptid-beladenen dendritischen Zellen basiert. Voraussetzung hierfür ist die Kenntnis immunogener Peptide. Zur Identifikation neuer immunogener Peptide, die sich aus dem Cancer-Testis-Antigen Lage-1 herleiten und Bindungsselektivität für das HLA-A*0201-Molekül aufweisen, wurde die Aminosäuresequenz von Lage-1 computergestützt auf Peptide hin untersucht, die das Ankermotiv für HLA-A*0201 tragen. Zwei der sieben synthetisierten Peptide wiesen in der Überprüfung mittels T2-Zellen eine Bindungsaffinität gegenüber HLA-A*02-Molekülen auf und wurden zur Stimulierung von isolierten CD8⁺ T-Zellen eingesetzt. Diese wurden aus dem peripheren Blut HLA-A*0201-positiver gesunder Spender isoliert und mit peptidbeladenen dendritischen Zellen stimuliert und anschließend mit peptidbeladenen autologen Monozyten bzw. mit peptidbeladenen Melanomzellen restimuliert. Zur Überprüfung der Antigen- / Peptidspezifität wurden die in vitro generierten T-Zell-Linien zusammen mit peptidbeladenen T2-Zellen, Melanomzellen oder transfizierten Cos 7-Zellen inkubiert und anschließend die im Überstand befindliche Zytokinmenge bzw. die Zell-Lyse ermittelt.

Das Peptid Lage-1₈₆₋₉₄ konnte peptidspezifische CD8⁺ T-Zellen bei einem von vier gesunden Spendern und das Peptid Lage-1₁₀₈₋₁₁₆ bei zwei von vier gesunden Spendern induzieren. Die generierten T-Zellen waren in der Lage peptidbeladene T2-Zellen ab einer Konzentration von mindestens 50 µM zu erkennen. Folgerung hieraus ist eine niedrige Affinität der spezifischen T-Zellen gegenüber dem zur Generierung verwendeten Peptid. Die Erkennung des natürlich prozessierten Lage-1-Antigens von HLA-A*0201-positiven und Lage-1-positiven Melanomzellen, von mit Plasmiden für HLA-A*0201 und Lage-1 transfizierten Melanom- oder Cos 7-Zellen sowie γ-Interferon-behandelten Melanomzellen zur Prozessierungsänderung konnte nicht nachgewiesen werden. Wie bei der Negativkontrolle mittels monoklonalem Antikörper gegen das HLA-A-, -B- und -C-Molekül zur Blockade sowie HLA-A*0201-negative, aber Lage-1a-positiv Melanomzellen fand keine Zytokinfreisetzung statt. Eine Erkennung von HLA-A*0201-negativen Melanomzellen, die mit HLA-A*0201 kodierenden Plasmiden transfiziert wurden und von Cos 7-Zellen, die mit dem für das HLA-A*0201-Molekül und dem für das Lage-1a bzw. Lage-1b kodierendem Plasmid transfiziert wurden, konnte wie bei den Melanomzellen erst nach zusätzlicher Peptidbeladung stattfinden.

Schlussfolgerung hieraus ist, dass die vorhergesagten Lage-1-Peptide zwar die Fähigkeit besitzen, peptidspezifische CD8⁺ T-Zellen zu generieren, dass aber die natürlich prozessierten Peptide des Cancer-Testis-Antigens Lage-1 eventuell in zu geringer Konzentration an der Oberfläche von Lage-1-positiven Melanomzellen präsentiert werden. Möglich wäre auch die zu geringe Bindungsaffinität der Peptide gegenüber dem HLA-A*0201-Molekül, so dass keine dauerhaften und stabilen Bindungen entstehen. Gegebenenfalls unterliegen die natürlich prozessierten Peptide des Lage-1-Antigens auch einer anderen Prozessierung mit unterschiedlicher Aminosäuresequenz als die vorhergesagte. Damit konnten die beiden Lage-1-Peptide Lage-1₈₆₋₉₄(RLQLHITM) und Lage-1₁₀₈₋₁₁₆(ILSRDAAPL) nicht als antigenes Epitop identifiziert werden.