

Jessica Alexandra Dörr
Dr.med.

Einfluss von Komplement auf die NK-Zell vermittelte Tumorzytotoxizität

Geboren am 29.10.1983 in Kralruhe
Examen am 08.12.2008 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Immunologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. vet. M. Kirschfink

Trotz des raschen medizinischen Fortschritts in den letzten Jahrzehnten stellen Krebserkrankungen nach wie vor die zweithäufigste Todesursache in den Industriestaaten dar. Im klinischen Alltag spielt bei der Therapie von Tumoren der Einsatz monoklonaler Antikörper eine wichtige Rolle.

Allerdings reagiert nur die Hälfte der Patienten mit Non-Hodgkin Lymphomen auf die Behandlung mit Rituximab (anti-CD20). Ebenso spricht ein signifikanter Anteil der Patienten mit Brustkrebs nicht auf die Therapie mit Herceptin (anti-HER2/neu) an bzw. entwickelt im Verlauf der Therapie eine Resistenz. Das Komplementsystem stellt mit der Opsonierung von Tumorzellen und der Komplement-vermittelter Lyse einen wichtigen Effektormechanismus der Therapie mit Tumor-spezifischen Antikörpern dar. Andererseits ist bekannt, dass Komplementregulatorproteine auch entscheidend an der oben beschriebenen Resistenz beteiligt sind. Um das volle Potential der therapeutischen Antikörper zu erreichen, scheint es daher wichtig deren genaue Wirkmechanismen aufzudecken. Dabei sind besonders die Wechselwirkungen zwischen den an der Tumoralabwehr beteiligten Komponenten des Immunsystems von großer Bedeutung.

Ziel der vorliegenden Doktorarbeit war es, mögliche Interaktionen zwischen dem Komplementsystem und natürlichen Killerzellen bei der Krebsabwehr darzustellen.

Bei der Reaktion der Antikörper-beladener Tumorzellen verschiedenen histologischen Ursprungs mit humanem Serum als Komplementquelle zeigte sich in der FACS-Analyse eine signifikante Beladung aller verwendeten Zelllinien mit iC3b. Die Anzahl der iC3b Moleküle war auf den Lymphomlinien Raji und Daudi allerdings deutlich größer als auf den Mammakarzinomlinien BT474, MDA453 und SK-BR3. Raji- und Daudi-Zellen aktivierten das Komplementsystem bereits ohne die Zugabe von Antikörpern über den alternativen Reaktionsweg. Die Komplement-vermittelte Lyse der Lymphomzelllinien war von der Konzentration des Antikörpers und des Serums abhängig. Herceptin bzw. Rituximab lösten zudem bei allen Targetzellen, außer SK-BR3, eine signifikante ADCC aus. Die Inkubation der Mammakarzinomzellen mit Serum und die daraus resultierender Beladung mit iC3b führte jedoch zu keiner signifikanten Steigerung der Lyse durch NK-Zellen. Im Gegensatz dazu gelang es uns zu zeigen, dass die Beladung von Raji- und Daudi-Zellen mit iC3b zu einer signifikant gesteigerten Zerstörung dieser Tumorzellen durch NK-Zellen führt. Anscheinend muss für den positiven Effekt von iC3b auf die NK-Zell-Zytotoxizität erst eine bestimmte Konzentration an iC3b Molekülen auf der Zielzelle erreicht werden. Bei den Mammakarzinomzelllinien hatte die Inkubation mit Serum trotz iC3b-Beladung keinen Einfluss auf die ADCC. Der Effekt der iC3b-Beladung der Lymphomzelllinien war variabel und abhängig von der Rituximabkonzentration. Bei Beladung mit Rituximab in niedriger Konzentration kam es zu einer Verstärkung der NK-Zell-vermittelte Lyse durch iC3b. Bei zunehmender Konzentration war der Effekt rückläufig und kehrte sich bei Raji-Zellen sogar ins Gegenteil um, so dass die Beladung mit iC3b zu einer Abnahme der ADCC führte. Der „Umkehrpunkt“ lag bei Raji- und Daudi-Zellen bei 0,04µg/ml Rituximab. Möglicherweise führen hohe

Konzentrationen von iC3b Molekülen zu einer sterischen Behinderung der Interaktion von CD16 mit dem Fc-Teil der Antikörper. Bei der Verwendung frisch isolierter NK-Zellen im Zytotoxizitätsassay war die Differenz zwischen den Werten der spontanen Lyse und der ADCC im Vergleich zu kultivierten NK-Zellen größer. Trotz der höheren Expression von CR3 auf den frischen NK-Zellen wurden iC3b-beladenen Tumorzellen jedoch nicht verstärkt abgetötet. Mittels verschiedener β -Glukane versuchten wir, wie bei der Bakterienabwehr bekannt, den CR3 auf NK-Zellen, der mit dem an die Tumorzelle gebundenem iC3b interagieren soll, vorzustimulieren, um so eine verstärkte Lyse zu erreichen. Trotz Einsatz verschiedener β -Glukane gelang es nicht eine verstärkte NK-Zell vermittelte Lyse der Tumorzellen zu erreichen. Auch der Versuch, mithilfe eines für neutrophile Granulozyten und Monozyten/ Makrophagen entwickelten Antikörpers gegen den aktivierten CR3 verschiedene β -Glukane auf ihre Fähigkeit hin zu testen, den CR3 zu aktivieren, war nicht erfolgreich. Hier ist jedoch zu erwähnen, dass bisher ein positives Ergebnis von β -Glukanen auf die NK-Zell Aktivität nur von einer Arbeitsgruppe beschrieben wurde und zudem die genaue Struktur der β -Glukane nicht bekannt ist.

Bei der Therapie von Tumoren stellt die Resistenz gegenüber therapeutisch eingesetzten Antikörpern ein Hindernis für eine erfolgreiche Behandlung dar. Es gibt verschiedene, viel versprechende Versuche diese Resistenz zu überwinden. Dazu gehören u.a. die Blockierung/ Expressionshemmung von Komplementregulatorproteinen und die orale Gabe von β -Glukanen. Das Wirkprofil von β -Glukanen ist vielseitig und sie sind gut verträglich. Unabdingbar ist es jedoch, die Wirkungsweisen der verabreichten β -Glukan Moleküle genauer zu charakterisieren, um deren Einsatzmöglichkeiten in der Klinik abzusichern. Eine Verstärkung der NK-Zell bedingten Tumorabwehr durch Opsonierung mit iC3b erscheint insbesondere in der Phase vor dem Auftreten der ersten Anti-Tumor Antikörper von Bedeutung. Eine mögliche Interferenz mit der durch therapeutisch verabreichte Antikörpern induzierten ADCC ist eine unerwartete Beobachtung und erfordert weitergehende Untersuchungen.