



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

**Seren und Plasmen gesunder Blutspender lysieren
komplementabhängig Melanomzellen**

Autor: Simon Andreas Laban
Institut / Klinik: Klinische Kooperationseinheit Dermato-Onkologie
Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg (DKFZ)
Doktorvater: Prof. Dr. S. Eichmüller

In den letzten Jahren gab es verschiedene Ansätze zur humoralen Immuntherapie in der Behandlung von malignen Neoplasien. Ziel der vorliegenden Arbeit war die Etablierung und Anwendung eines Screeningverfahrens zur Entdeckung von humanen, zytotoxischen, natürlichen Antikörpern aus Seren und Plasmen gesunder Spender. Anschließend sollte die zytotoxische Wirkungsweise dieser Antikörper auf humanen Melanomzelllinien genauer untersucht werden.

Als Screeningverfahren wurden der auf LDH-Bestimmung beruhende nicht-radioaktive Cytotox 96®-Test, der MTT-Test, der CISS-Assay und die Messung der Propidiumiodidinterkalation in die DNA mittels Durchflusszytometrie auf ihre Anwendbarkeit geprüft. Am besten geeignet erschien das durchflusszytometrische Verfahren, welches bei wiederholten Messungen zuverlässig positive von negativen Seren unterscheiden konnte. Zur Standardisierung dieser Methode wurde eine einheitliche Komplementquelle in Form von normal humanem Serumkomplement verwendet. Die Zytotoxizität war bei Verwendung von Plasma im Allgemeinen geringer als bei Verwendung von Serum, was an der unterschiedlichen Komposition dieser Blutprodukte liegen könnte. Mittels der durchflusszytometrischen Quantifizierung der Zytotoxizität wurde die Häufigkeit solcher zytotoxischer Plasmen gegen die Melanomzelllinie MeWo mit 2/671 (3%) bei einem Schwellenwert der Zytotoxizität $\geq 50\%$ in mehreren Messungen bei Verwendung der Standardserumkomplementquelle bestimmt.

Es konnte gezeigt werden, dass die Zytotoxizität konzentrationsabhängig und komplementvermittelt ist. Die Mediatoren der Komplementaktivierung konnten nicht zweifelsfrei erwiesen werden. Da jedoch durchflusszytometrisch eine erhebliche Bindung von IgM-Antikörpern beobachtet werden konnte, während keine relevante IgG-Antikörperbindung nachweisbar war, kann vermutet werden, dass es sich bei den Mediatoren der Komplementaktivierung um Antikörper der IgM-Klasse handelt. Die Expression membrangebundener Komplementregulationsproteine (mCRP) scheint die Suszeptibilität der Melanomzelllinien für eine komplementvermittelte Zytotoxizität zu beeinflussen und könnte ein Grund für das geringere Ansprechen anderer Melanomzelllinien als MeWo sein. Für zukünftige Screeningverfahren zur Auswahl klinisch applizierbarer, polyklonaler IgM-Präparationen sollten mehrerer Zelllinien derselben Tumorart verwendet werden, um das Antigenspektrum zu erweitern und zu prüfen, ob ein definiertes Serum mehrere Zelllinien erkennen und lysieren kann. Im Falle der Initiation einer klinischen Studie sollte die Expression der mCRP als mögliche Resistenzfaktoren für eine humorale Immuntherapie im Tumor des jeweiligen Patienten zur therapeutischen Effizienzerhöhung bestimmt werden.