

Melanie Engelhardt
Dr. sc. hum.

Untersuchungen zu Immunevasionsmechanismen von Tumorzellen des Multiplen Myeloms

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. Hartmut Goldschmidt

Bei verschiedenen Tumorentitäten sind Immunevasionsmechanismen beschrieben worden, die für die Pathogenese maligner Erkrankungen entscheidend sind.

Ziel dieser Arbeit war die Identifikation von Immunevasionsmechanismen beim Multiplen Myelom als Vorarbeit zur Verbesserung von Tumorstimulationstherapien, die bisher keinen klinischen Benefit zeigten.

Zunächst sollte festgestellt werden, ob bei Patienten mit fortgeschrittener Plasmazell Dyskrasie eine Suppression der Immunantwort vorliegt. Daher wurden tumorantigen-spezifische T-Zellen aus dem Knochenmark von 30 Patienten mit Plasmazell Dyskrasien unterschiedlichen Stadiums mittels autologer *in vitro* generierter peptid-beladener Dendritischer Zellen expandiert und im ELISpot die antigenspezifische T-Zell-Antwort detektiert. Weiterhin wurde die Expression des kostimulatorischen Proteins CD28 auf den T-Zellen vor der Expansion mittels Durchflusszytometrie untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass die Immunantwort bei Patienten mit fortgeschrittener Plasmazell Dyskrasie (symptomatisches Multiples Myelom) im Vergleich zu frühen Stadien (Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz und „*smoldering multiple myeloma*“) inhibiert war. Die verminderte T-Zell-Reaktivität korrelierte mit einer erhöhten Frequenz an CD8⁺CD28⁻ T-Zellen im Knochenmark der Patienten.

Weitere Untersuchungen befassten sich daher mit den möglichen Ursachen für diese verminderte T-Zell-Reaktivität.

Zunächst wurde der Einfluss des Tumor-Mikromilieus auf T-Zellen analysiert, indem T-Zellen von Gesundspendern in Gegenwart der Knochenmark-Plasmen von 15 Patienten mit Plasmazell Dyskrasien polyklonal stimuliert und anschließend durchflusszytometrisch auf intrazelluläres Interferon- γ und CD28 analysiert wurden.

Lösliche Faktoren des Tumor-Mikromilieus von Patienten mit fortgeschrittener Plasmazell Dyskrasie inhibierten die Interferon- γ Freisetzung. Als ein suppressiver Faktor wurde das arginin-metabolisierende Enzym Arginase identifiziert. Die Suppression korrelierte mit der

Arginasekonzentration in den Plasmen und die Interferon- γ Sekretion konnte durch Argininsubstitution in Verbindung mit dem Arginaseinhibitor nor-NOHA rekonstituiert werden.

Neben der verminderten Interferon- γ Sekretion wurde eine Herunterregulation von CD28 festgestellt, die allerdings nicht mit der Arginaseaktivität in den Plasmen korrelierte. Bei polyklonaler Stimulation unter Arginindepletion war ebenfalls eine CD28 Herunterregulation zu beobachten, die sogar ausgeprägter war als bei der Inkubation in Knochenmark-Plasma.

Darüber hinaus wurde die Argininabhängigkeit antigenerfahrener T-Zellen von Gesundspendern analysiert, nachdem diese mithilfe autologer peptidbeladener Dendritischer Zellen expandiert wurden. Mittels ELISpot, ELISA und Durchflusszytometrie konnte gezeigt werden, dass sowohl die Freisetzung von Interferon- γ als auch von GranzymB unter Arginundefizienz supprimiert war.

Abschließende Analysen untersuchten, ob CD8⁺CD28⁻ T-Zellen immunsuppressive Kapazität besitzen. Angereicherte CD8⁺CD28⁻ Zellen wurden ohne direkten Zell-Zell-Kontakt bei der antigenspezifischen Expansion autologer T-Zellen von Gesundspendern koinkubiert und die Reaktivität der T-Zellen im ELISpot detektiert. CD8⁺CD28⁻ Zellen waren in der Lage, über lösliche Faktoren die Expansion antigenspezifischer T-Zellen zu supprimieren.

In dieser Arbeit konnte somit bei Patienten mit fortgeschrittener Plasmazelldyskrasie eine supprimierte Immunantwort festgestellt werden. Weiterhin wurde gezeigt, dass auch funktionale T-Zellen im Tumor-Mikromilieu durch Immunevasionsmechanismen wie z. B. Arginundefizienz durch Arginase oder unter dem Einfluss von CD8⁺CD28⁻ Suppressorzellen inhibiert werden können, was für die Anwendung adoptiver T-Zell-Therapien relevant ist.

Diese Erkenntnisse sollten bei der Entwicklung von Tumorstimmungsstrategien berücksichtigt werden, indem einerseits die Vakzination mit immunmodulatorischen Therapien kombiniert wird. Andererseits sollte zukünftig eruiert werden, ob eine Tumorstimmung von Patienten in einem frühen Stadium der Plasmazellerkrankung, bei denen die Immunevasion noch nicht etabliert ist, die Progression in ein symptomatisches Multiples Myelom verhindern oder hinauszögern kann.