

**Name:** Nasrh-Mohamed Hassan Atia Hassan

**Titel der Dissertation:** "Impact of anti-cancer drugs on antibody-based complement-mediated tumor cell killing"

**Fach/Einrichtung:** Immunologie

**Doktorvater:** Prof. Dr. med.vet. Michael Kirschfink

## **Zusammenfassung der Dissertation** **„Dr. Sc. hum“**

Trotz des zunehmenden Einsatzes von Chemotherapeutika, aber auch von therapeutischen Antikörpern ist eine Heilung von Tumorpatienten auch heute noch oftmals nicht möglich. Ein großes Hindernis stellt dabei die Resistenzentwicklung gegenüber Chemotherapeutika, aber auch gegenüber immuntherapeutischen Ansätzen dar. Die meisten Tumoren sind unempfindlich gegenüber einem Komplement-vermittelten cytotoxischen Angriff, was im wesentlichen auf die Überexpression der Komplement-Membranregulatoren (mCRP) CD46, CD55 und CD59 zurückzuführen ist. Nicht nur inflammatorische Zytokine und selbst sub-lytisches Komplement und Perforin verändern (meist verstärken) diese Komplementresistenz, sondern auch verschiedene chemotherapeutische Medikamente in vitro nach Langzeitbehandlung der Tumorzellen.

Ziel der hier dargestellten Dissertation war es, den Einfluss einer Kurzzeitbehandlung ausgewählter Chemotherapeutika auf die Antikörper-induzierte, Komplement-vermittelte Opsonisierung und cytotoxische Zerstörung von Krebszellen zu untersuchen. In einem semikinetischen Ansatz mit 2 Inkubationszeiten (24 und 48 Stunden) wurden Zellen von Tumorzelllinien verschiedenen histologischen Ursprungs (Brusttumoren: BT474; SKBR-3; Lymphom: Raji) mit unterschiedlichen Konzentrationen der Chemotherapeutika Doxorubicin, Taxol, Fludarabin und Bortezomib behandelt.

Die Expression der mCRP, die Opsonisierung mit iC3b sowie die Bindung des Regulators Faktor H (fH) wurden mittels cytofluorometrischer Analyse, die zytotoxische Zerstörung mittels <sup>51</sup>Chrom- Freisetzungstest und die löslichen Komplementregulatoren (C1-Inhibitor, Faktor H und Faktor I) mittels ELISA quantifiziert.

Die Ergebnisse zeigen einen deutlichen Einfluss der mCRP-Expression auf die Empfindlichkeit der Tumorzellen gegenüber dem zytolytischen Komplement-Angriff. Der stärkste Wirkung der Chemotherapeutika betraf die Regulatoren CD55 und

CD59. Wir können erstmalig zeigen, dass Bortezomib die Expression der Membranregulatoren auf Brusttumorzellen hemmt und dies zu einer erhöhten Sensitivität gegenüber der Komplement-vermittelten Zytotoxizität führt. Diese erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Bortezomib wurde auch bei Raji-Zellen beobachtet, obwohl dies nicht mit einer verminderten Expression der mCRP einherging. Eine Freisetzung der löslichen Regulatoren C1-Inhibitor, Faktor H und Faktor I konnte nicht nachgewiesen werden. Es gelang jedoch der Nachweis, dass, abhängig von der Dosis, Chemotherapeutika-behandelte Kebszellen Faktor H binden und damit eine mögliche weitere Steigerung der Komplementresistenz dieser Tumoren erreicht wird.

Um den synergistischen Effekt der Chemo- und Immuntherapie zu verbessern, versuchten wir die unter Einfluss der Chemotherapeutika hochexpressierten mCRP durch spezifische neutralisierenden Antikörper zu blockieren. Diese Blockade führte zum Teil zu einer besseren zytotoxischen Zerstörung der mit Doxorubicin-, jedoch nicht mit Taxol behandelten BT474 Zellen. Bei den über 48 Stunden mit Taxol vorbehandelten SKBR-3 Zellen führte die Regulatorblockade zu einer erhöhten Empfänglichkeit gegenüber einem zytotoxischen Komplementangriff, was bei Bortezomib- und Fludarabin- behandelten Lymphomzellen jedoch nur teilweise gelang.

Interessanterweise wurden alle Chemotherapeutika-behandelten Tumorzellen, zum Teil dosisabhängig, besser durch Ablagerung von iC3b opsonisiert.

Zusammengefasst zeigen unsere Daten zwar eine erhöhte Resistenz der Chemotherapeutik-behandelte Tumorzellen gegenüber der Komplement-vermittelten Lyse auch nach Kurzzeitexposition, jedoch auch eine verstärkte Opsonisierung, was zu einer verbesserten Tumorzell-Elimination mittels Komplement-abhängiger zellulärer Zytotoxizität (CDCC) und Antikörper-abhängigen zellulären Zytotoxizität (ADCC) beitragen könnte.