



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Identifizierung neuer HLA-A*0201 restringierter T-Zell-Epitope, die sich aus den melanozytären Differenzierungsantigenen TRP-1 und TRP-2 herleiten

Autor: Carsten Jankowiak
Institut / Klinik: Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Doktorvater: Prof. Dr. D. Schadendorf

Das maligne Melanom stellt im Stadium der Fernmetastasierung eine Erkrankung mit infauster Prognose dar, die sich durch konventionelle Therapien nicht wesentlich verbessern lässt. Einen alternativen Therapieansatz stellt die Immuntherapie dar, bei der eine Vakzinierung mit Peptiden bzw. mit dendritischen Zellen, die mit solchen Peptiden beladen wurden, durchgeführt wird. Voraussetzung ist die Kenntnis immunogener Peptide.

Zur Identifikation neuer immunogener Peptide, die sich aus den melanozytären Differenzierungsantigenen TRP-1 und TRP-2 herleiten und Bindungsselektivität für das HLA-A*0201-Molekül aufweisen, wurde die Aminosäuresequenz von TRP-1 und TRP-2 computergestützt auf Peptide hin untersucht, die das Ankermotiv für HLA-A*0201 tragen. Neun TRP-1 und sechs TRP-2 abgeleitete Peptide wurden synthetisiert und mittels T2-Zellen auf ihre Bindungsfähigkeit gegenüber HLA-A*02-Molekülen überprüft. Peptide mit guten Bindungseigenschaften wurden eingesetzt, um isolierte CD8⁺ T-Zellen zu stimulieren. Diese wurden aus dem peripheren Blut HLA-A*02 positiver gesunder Spender bzw. von Melanom-Patienten isoliert und mit peptidbeladenen dendritischen Zellen stimuliert und anschließend mit peptidbeladenen Monozyten restimuliert. Zur Überprüfung der Antigen-/Peptidspezifität wurden die *in-vitro* generierten T-Zell-Linien zusammen mit peptidbeladenen T2-Zellen, Melanomzellen oder transfizierten Cos7-Zellen inkubiert und anschließend die im Überstand befindliche Zytokinmenge oder die Zell-Lyse ermittelt.

Aus den TRP-2 abgeleiteten Peptiden wies TRP-2₂₈₈₋₂₉₆ (SLDDYNHLV) das beste Bindungsverhalten gegenüber HLA-A*02-Molekülen auf und war in der Lage, die Entwicklung peptidspezifischer CTL bei einem von vier Melanom-Patienten und drei von vier gesunden Spendern zu induzieren. Die CTL-Linien von zwei gesunden Spendern waren jedoch erst in der Lage, Melanomzellen zu lysieren, wenn diese vorher mit exogen zugeführtem Peptid beladen wurden. TRP-2₂₈₈₋₂₉₆ (SLDDYNHLV) konnte somit als neues antigenes Epitop identifiziert werden.

Aus den TRP-1 abgeleiteten Peptiden wies TRP-1₈₋₁₆ (SLGCIFFPL) das beste Bindungsverhalten gegenüber HLA-A*02-Molekülen auf und war in der Lage, die Entwicklung peptidspezifischer CTL bei einem von vier Melanom-Patienten und drei von vier gesunden Spendern zu induzieren, die peptid-beladene T2-Zellen erkannten. Die Erkennung von Melanomzellen erfolgte jedoch uneinheitlich und nicht im Sinne einer HLA-Restriktion durch HLA-A*02. Ob es sich bei diesem Phänomen um Kreuzreaktivität oder unspezifische Reaktionen handelt, konnte nicht geklärt werden und TRP-1₈₋₁₆ (SLGCIFFPL) nicht eindeutig als T-Zell-Epitop identifiziert werden.