

Eva Christine Ripberger
Dr. sc. hum.

Identifizierung eines neuen Tumorantigens, das durch Leserasterverschiebung im O-linked- β -N-Acetylglucosaminyltransferasegen in Tumorzellen mit defektem DNA-Mismatch-Reparatursystem entsteht

Geboren am 25.09.1972 in Stuttgart-Hedelfingen
Diplom der Fachrichtung Biotechnologie am 24.11.1997 an der Fachhochschule für Technik und Gestaltung in Mannheim

Pathologisches Institut, Abteilung für molekulare Pathologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Magnus von Knebel Doeberitz

Mikrosatelliteninstabilität (MSI) ist charakteristisches Merkmal des erblichen, nicht polyposen Kolonkarzinoms (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer, HNPCC). MSI wurde aber auch in etwa 15% sporadischer Tumoren nachgewiesen. Kurze repetitive DNA-Sequenzen, die als Mikrosatelliten bezeichnet werden, sind hierbei durch Insertionen und/oder Deletionen auf Nukleotidebene mutiert. Ursache ist die funktionelle Inaktivierung des DNA-Mismatch-Reparatur (MMR)-Systems. MSI⁺-Tumoren sind oft stark mit Lymphozyten, insbesondere mit aktivierten T-Zellen, infiltriert. Instabilität kodierender Mikrosatelliten führt zu Leserastermutationen und in Folge zur Synthese trunkierter Proteine mit zum Teil verändertem Carboxyterminus. Solche neuartigen Proteinabschnitte könnten nach endogener Prozessierung und Präsentation im Kontext von HLA-Molekülen („human lymphocyte antigen“) zu einer spezifischen Erkennung MSI⁺ Tumorzellen durch T-Zellen führen.

In der vorliegenden Arbeit wird gezeigt, dass ein HLA-A2.1-restringiertes 10mer Peptid (FSP06, „SLYKFSPFPL“) ein solches T-Zell-Antigen darstellt. Das Peptid resultiert aus einer Leserastermutation eines T(10)-Mikrosatelliten in Exon 5 des O-linked- β -N-Acetylglucosaminyltransferasegens (OGT). Durch in vitro Stimulation mit FSP06-beladenen, aktivierten, autologen B-Zellen konnten periphere CD8⁺-T-Zellen eines gesunden Spenders spezifisch aktiviert und zur Proliferation angeregt werden. Nach Vereinzeln zeigten 9 von 24 getesteten T-Zellklonen eine spezifische Lyse von HLA-A2.1-positiven Tumorzellen, die das trunkierte Protein (OGT(-1)) endogen exprimieren.

Des Weiteren wurde eine HLA-Allel unabhängige Methode zur T-Zellstimulation mit cDNA-transfizierten CD40Bs etabliert. Eine mit OGT(-1)-transfizierten CD40Bs stimulierte T-Zellmassenkultur zeigte ebenfalls eine spezifische Lyse von Tumorzellen, die das trunkierte Protein (OGT(-1)) endogen exprimieren.

In der vorliegenden Arbeit wird nachgewiesen, dass das OGT(-1)-Protein in MSI⁺-Tumorzellen endogen prozessiert, über HLA-Moleküle präsentiert und durch zytotoxische T-Zellen erkannt wird. Dies ist ein Beweis dafür, dass Leserastermutationen zu immunogenen Peptiden führen, die spezifische antitumorale T-Zell-Reaktionen auslösen können – sie sind somit ein ideales Ziel immuntherapeutischer Ansätze.