

Melanie Victoria Berghofen  
Dr. med.

## **Selektion zytotoxischer T-Lymphozyten gegen das Multiple Myelom**

Geboren am 21.04.1978 in Heidelberg  
Reifeprüfung am 18.06.1997 in Neckargemünd  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1998 bis WS 2005  
Physikum am 21.03.2000 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Heidelberg und Toronto (Kanada)  
Staatsexamen am 1.12.2005 an der Universität Heidelberg

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

Das Multiple Myelom ist eine bisher unheilbare Erkrankung, die auf eine maligne Veränderung von Zellen der B-Zellreihe zurückzuführen ist. Ein möglicher therapeutischer Ansatz liegt in der Verwendung zytotoxischer T-Zellen, die Antigene auf der Oberfläche von Myelomzellen erkennen und zur Zerstörung der entarteten Zellen führen. Dabei sind besonders diejenigen Antigene von Interesse, die spezifisch für Myelomzellen sind und auf normalen B-Zellen fehlen. Die Identifikation spezifischer Antigene könnte außerdem einen Ausgangspunkt für weitere Therapieansätze darstellen. Myelomzellen besitzen im Vergleich zu antigenpräsentierenden Zellen (APC) keine costimulatorischen Moleküle 4-1BBL (CD137) und B7-1 (CD80), die zur Auslösung einer T-Zellantwort essentiell sind. Daher wird eine effektive Immunantwort des Patienten gegenüber dem Multiplen Myelom wahrscheinlich behindert.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden fünf verschiedene Myelomzelllinien verwendet, bei denen durch Transduktion die Expression der costimulatorischen Moleküle 4-1BBL und B7-1 induziert wurde. Diese Zelllinien wurden zur Selektion und gleichzeitigen Aktivierung myelomspezifischer CD8<sup>+</sup> Zellen aus dem Blut eines gesunden Spenders verwendet. Dabei wurden zunächst die *Human Leukocyte Antigen* (HLA) Klasse I Subtypen aller transduzierten Myelomzelllinien mittels PCR bestimmt und mit dem der homologen, nicht transduzierten Myelomzelllinien verglichen. Es konnte gezeigt werden, dass die Transduktion der Myelomzellen mit 4-1BBL und B7-1 keinen Einfluss auf deren HLA Typ hatte und daher die Voraussetzung für ihre weitere Verwendung gegeben war.

Es wurden drei identische T-Zellkulturen (T1a, T1b und T2) eines gesunden Spenders angelegt, die zuvor mittels *Magnet Associated Cell Sorting* (MACS) von Makrophagen,

Monozyten, B-Lymphozyten, Plasmazellen, aktivierten CD8<sup>+</sup> Zellen sowie APC befreit wurden. Die T-Zellkulturen wurden nach unterschiedlichen Protokollen mit transduzierten Myelomzelllinien stimuliert. Interessanterweise hatten die verschiedenen Stimulationsprotokolle keinen signifikanten Einfluss auf das Zellwachstum. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass durch die Verwendung von *Feeder*-Zellen eine fünffach höhere Teilungsrate erzielt werden konnte wodurch das zuvor existierende Problem der Verfügbarkeit von ausreichenden Zellmengen behoben werden konnte.

Um die Wirksamkeit der selektierten T-Zellen *in vitro* zu überprüfen wurden Zytotoxizitätstests mit radioaktivem Chrom (<sup>51</sup>Cr) durchgeführt. Alle getesteten T-Zellkulturen zeigten Zytotoxizität gegenüber den zur Selektion verwendeten Myelomzelllinien. Das zunächst vielversprechende Ergebnis wird jedoch durch die Tatsache infragegestellt, dass die homologen EBV-infizierten Myelomzellen mit vergleichbarer Effizienz durch die selektierten T-Zellen lysiert werden. Die EBV-infizierten Myelomzellen sollten hauptsächlich antigene Peptide viralen Ursprungs präsentieren, wodurch unklar bleibt, ob die selektierten T-Zellen gegen ein myelomzellspezifisches Antigen gerichtet sind.

Basierend auf den vorliegenden Daten, erscheint es vielversprechend, die mit 4-1BBL und B7-1 cotransduzierten Myelomzelllinien in einem autologen Projekt einzusetzen. Erste Erfolge konnten hier bereits mit ausschließlich B7-1 transduzierten Myelomzellen zur Gewinnung von zytotoxischen T-Lymphozyten im Labor von Prof. Klein erzielt werden.