

Insa Nathalie Klug

Dr. med.

Phänotypische Charakterisierung und Untersuchung der antigen-präsentierenden Funktion von Plasmazytomzellen.

Geboren am 30.04.1971 in Heidelberg

Reifeprüfung am 22.06.1990

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1991 bis SS 1998

Physikum am 29.03.1993 an der Albertus Magnus - Universität zu Köln

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg

Staatsexamen am 17.06.1998 an der Ruprecht - Karls - Universität Heidelberg

Promotionsfach: Onkologie

Betreuerin: PD Dr. med. Carmen Scheibenbogen

In dieser Arbeit wurde untersucht, inwieweit Plasmazellen die Voraussetzung besitzen, von antigenspezifischen T-Lymphozyten erkannt zu werden, und inwiefern sie selbst in der Lage sind, eine T-Zell-Antwort zu induzieren.

Dazu wurden zunächst die Plasmazellen von 22 Plasmazytom-Patienten auf ihre Oberflächenantigen-Expression mittels FACS-Analyse hin untersucht. Der vorherrschende Phänotyp der malignen Plasmazellen war CD19⁻, CD54⁺ (ICAM-1), CD56⁺, CD58⁺ (LFA-3), CD80⁻ (B7-1), CD86⁻ (B7-2) und HLA-Klasse I⁺⁺. HLA-DR war nur bei einem Drittel der Fälle vorhanden. Mit der Expression von HLA-Antigenen und Adhäsionsmolekülen auf den Tumorzellen sind wichtige Voraussetzungen für die Erkennung durch antigenspezifische T-Zellen gegeben. Eine Verstärkung bzw. Induktion der Oberflächenmoleküle gelang weder durch die potentiell stimulierenden Zytokine IL-6, GM-CSF und IFN- α noch durch Lipopolysaccharid (LPS).

Neben der phänotypischen Charakterisierung wurden T-Zell-Assays durchgeführt, um zu klären, inwieweit maligne Plasmazellen eine T-Zell-Antwort stimulieren oder auch supprimieren. Zu diesem Zwecke wurden humane Plasmazytomzelllinien eingesetzt. Von besonderem Interesse war für uns die Bedeutung der kostimulatorischen Moleküle B7-1 und B7-2, da seit einigen Jahren bekannt ist, daß zur Aktivierung naiver ruhender T-Zellen neben dem antigenen Peptid, das in Zusammenhang mit dem körpereigenem HLA-Molekül vom T-Zellrezeptor erkannt wird, ein zweites (kostimulatorisches) Signal notwendig ist. Wird das Antigen in Abwesenheit von kostimulatorischen Signalen präsentiert, so resultiert eine T-Zell-Anergie. Dieses sogenannte kostimulatorische Signal kann insbesondere durch eine Rezeptor-Liganden-Interaktion durch B7 auf den CD28-Rezeptor der T-Zellen vermittelt werden.

In den Experimenten fiel die Induktion einer starken Proliferation nicht voraktivierter allogener T-Zellen durch die einzige B7-1 und B7-2 exprimierende Plasmazytomzelllinie IM-9 auf. Diese stimulatorische Funktion ließ sich durch spezifische Blockade mittels CTLA-4Ig hemmen. Die beiden B7 negativen Zelllinien U-266 und LP-1 induzierten hingegen keine T-Zell-Proliferation.

Die gleichen Experimente wurden mit durch anti-CD3 voraktivierten T-Lymphozyten durchgeführt. Auch hier induzierten die B7 tragenden IM-9-Zellen eine stark ausgeprägte T-Zell-Proliferation, die jedoch durch CTLA-4Ig nur geringgradig gehemmt wurde.

Außerdem zeigten bei diesen Versuchen auch die B7 negativen Zelllinien U-266 und LP-1 eine moderate stimulatorische Funktion. Im Gegensatz zur B7-abhängigen Stimulation ruhender allogener T-Zellen durch Plasmazellen scheint die Induktion einer Proliferation bei voraktivierten allogeneren T-Lymphozyten B7-unabhängig zu sein. Eine Suppression der T-Lymphozytenproliferation wurde in keinem Experiment gesehen.

Um weitere Untersuchungen durchführen zu können, die die funktionelle Bedeutung der kostimulatorischen Moleküle B7-1 und B7-2 bei der Aktivierung von T-Zellen durch maligne Plasmazellen verdeutlichen, wurde versucht, die kostimulatorischen Moleküle mit Hilfe des Kanarienvogel-Pockenvirus ALVAC auf die B7 negativen Plasmazellen der Linien U-266 und HS-Sultan zu transfezieren. Eine Induktion bzw. Verstärkung der B7-Expression bei diesen Plasmazytomzelllinien konnte jedoch nicht nachgewiesen werden, während die Transfektion von B7-1/-2 auf die humanen Melanomzellen der Linie SK-Mel28 problemlos gelang.

Die durchgeführten Experimente zeigen, daß maligne Plasmazellen durch die starke Expression von HLA-Klasse I in Verbindung mit den Adhäsionsmolekülen ICAM-I und LFA-3 die wichtigsten Voraussetzungen besitzen, um von T-Zellen erkannt zu werden. Bei der Induktion einer therapeutischen Immunantwort muß insbesondere eine Reaktion der CD8 positiven T-Lymphozyten, die Antigene über HLA-Klasse I präsentierende Peptide erkennen, angestrebt werden, da die Antigenpräsentation für CD4 positiven T-Zellen HLA-DR abhängig vermittelt wird und nur etwa 32% der Plasmazytomzellen HLA-DR exprimieren.

Als Möglichkeit, immunogene Tumorzellen zu erhalten, die für eine Vakzinierungstherapie eingesetzt werden könnten, ist die Transfektion der kostimulatorischen Moleküle B7-1 und B7-2 ein denkbarer Ansatz.

Diese Arbeit unterstreicht die Relevanz weiterer tumorimmunologischer Forschung und immunologischer Therapieergänzung der Chemo- und Transplantationsbehandlung des Plasmazytoms, das durch die Bildung eines Tumor-spezifischen Antigens und die Expression der notwendigen Oberflächenmoleküle wichtige Voraussetzungen für tumorimmunologische Therapieansätze erfüllt.