



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Genexpressionsprofile epithelialer Thymustumoren und
Quantifizierung des thymischen T-Zell Exports bei Myasthenia
Gravis**

Autor: Anna-Lena Bohlender-Willke
Institut / Klinik: Pathologisches Institut
Doktorvater: Prof. Dr. A. Marx

Thymome sind die häufigsten und komplexesten Mediastinaltumoren des Menschen, da ihre neoplastischen Epithelzellen eine variable intratumoröse, thymusähnliche Thymopoese unterstützen, was auf wenig verstandene Weise zu zahlreichen Autoimmunerkrankungen (besonders zur Myasthenia Gravis) und zu einer solchen morphologischen Vielfalt führt, dass die Reproduzierbarkeit der WHO-Klassifikation (mit 5 Thymomsubtypen: A, AB, B1-B3; und Thymuskarzinomen) als unbefriedigend gilt und neue molekulare Diagnosekriterien sinnvoll erscheinen. Daher verfolgt die vorliegende Arbeit mit molekular- und zellbiologischen Methoden folgende Ziele:

1. Differenziell exprimierte Kandidatengene mit Relevanz für Thymusentwicklung und Thymopoese in Thymustumoren unter diagnostischen Gesichtspunkten zu identifizieren;
2. nach neuen Autoantikörpern in Relation zu den Thymomtypen zu suchen;
3. die zur Myasthenie führenden Mechanismen durch Vergleich mit der serologisch verwandten „Late Onset Myasthenia Gravis“ besser zu verstehen.

In Bezug auf differenziell exprimierte Gene zeigte sich, dass *alle* hier untersuchten, für die Entwicklung der frühen Thymusanlage wichtigen Gene - HOXA3, PAX1, PAX9, SIX1 und EYA1 - in den thymopoetisch aktiven Typ AB und B2 Thymomen differenziell exprimiert wurden, während die thymopoetisch gering oder nicht kompetenten Typ A und B3 Thymome und thymische Plattenepithelkarzinome Defekte der EYA1 und/oder SIX1 Expression zeigten, ohne dass sich das auf die Expression des thymischen „Master-Regulatorgens“ FOXP1 auswirkte. Differentielle, mit der thymopoetischen Kompetenz korrelierende Expressionsprofile fanden sich auch bei der Analyse I) kortiko-medullärer Gene (z.B. der Claudine 1, 3, 4 und 7) und II) von Chemokinen (CCL25, CXCL12), dem Cytokin SCF und dem NOTCH-Liganden DLL4, die bei der Maus essentiell sind, um die Differenzierung hämatopoetischer Progenitoren in Mastzellen, B-, oder T-Zellen zu „treiben“. Demgegenüber korrelierte die Expression der für die Stammzellgenerierung typischen „Reprogrammierungsgene“ OX40, SOX2 und KLF4 zwar mit den Histotypen, nicht aber mit deren thymopoetischer Kompetenz. Zusammen mit Berichten über die MYC Expression in Thymustumoren implizieren die vorliegenden Befunde, dass nur Thymuskarzinome alle vier „Stammzellgene“ (OX40, SOX2, KLF4, MYC) überexprimieren. Diese „Alleinstellung“ der Thymuskarzinome zeigte sich auch bei den Apoptose-relevanten Genen, da die Überexpression der Apoptoseinhibitoren BIRC3 und TIGAR nur für Thymuskarzinome typisch war – was diese Gene zu potentiellen „Targets“ gezielter Karzinomtherapien macht. Schließlich ließ sich auf der Basis der vorgenannten differenziell exprimierten Gene ein differentialdiagnostisch optimales „Genpanel“ ableiten, dessen praktische diagnostische Relevanz in prospektiven Studien getestet werden sollte.

Da im Verlauf der Arbeit eine neue Form der Myasthenia Gravis bei sogenannten „sero-negativen“ Patienten ohne Thymom beschrieben worden war, konnten wir erstmals die dafür typischen Autoantikörper gegen das LRP4-Autoantigen, auch bei Thymompatienten mit und ohne Myasthenia Gravis und in ungewöhnlicher Assoziation zu bestimmten Histotypen (z.B. nicht bei B3 Thymomen) und bei Thymuszysten alter Menschen nachweisen, so dass sich aus diesen Ergebnissen potentiell neue diagnostische Marker für Erkrankungen (z.B. zystische Mediastinaltumoren) ergeben könnten, für die bisher keine Tests zur Verfügung stehen.

Schließlich zeigte sich durch Quantifizierung des thymischen Exports naiver T-Zellen und die Analyse eines funktionellen CTLA4 Polymorphismus, dass sich Thymom-assoziierte und „Alters-Myasthenie“ trotz fast identischer Autoantikörperprofile entgegen der Lehrmeinung in pathogenetischer Hinsicht stark unterscheiden: während bei Thymomen offenbar zentrale (thymische) immunologische

Toleranzdefekte (assoziiert mit einem CTLA4^{high} Genotyp und gesteigertem T-Zellexport) im Vordergrund stehen, dürfte bei der „Alters-Myasthenie“ der periphere Toleranzverlust (assoziiert mit einem CTLA4^{low} Genotyp und vermindertem T-Zellexport) wichtig für die Autoimmunisierung sein. Überraschenderweise zeigte sich in diesem Zusammenhang bei der Suche nach Umweltfaktoren/Medikamenten, die das Risiko für eine „Alters-Myasthenie“ steigern könnten, dass die Einnahme von Statinen den thymischen T-Zellexport bei alten Menschen steigert – und daher eher nicht dazu beiträgt, das Risiko zur Entwicklung einer „Alters-Myasthenie“ zu steigern. Zusammenfassend gewährt die vorliegende Arbeit *neue* Einblicke in die Tumor- und Immunbiologie von Thymomen und in die Immunpathogenese der „Alters-Myasthenie“. Die Thymom- und Thymuskarzinombezogenen transkriptionellen Befunde haben potentiell Relevanz in Bezug auf das Ziel einer stärker molekular begründeten Klassifikation der Thymome und weisen zum Teil Perspektiven hin zu molekular begründeten, gezielten Therapien auf. Die Entdeckung des (mechanistisch noch aufzuklärenden) Statineinflusses auf den thymischen T-Zellexport impliziert eine neue pharmakologische Strategie zur Verbesserung der Thymusfunktion im Alter.