

Paula Kage  
Dr. med.

## **Der Einfluss von CD73 auf die Tumorantwort im RET Melanom-Modell**

Fach/Einrichtung: Dermatologie

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Karsten Mahnke

Adenosin und Adenosintriphosphat spielen eine wichtige Rolle in der Regulation von Immunreaktionen. Adenosin wirkt antiinflammatorisch. Für Tumoren konnte gezeigt werden, dass Adenosin die gegen den Tumor gerichtete Immunantwort unterdrückt.

Die Umsetzung von extrazellulärem ATP zu ADP und AMP wird durch die Ektonucleoside CD39 katalysiert, während AMP in Adenosin durch die Ekto-5'-Nucleotidase CD73 umgewandelt wird.

Es wurde gezeigt, dass in CD73-defiziente Mäuse implantierte Melanome signifikant schlechter progredierte als in Wildtypmäusen.

Zur weiteren Analyse des Zusammenhangs zwischen RET-Melanomen und der Expression von CD73 untersuchte ich die Leukozytenpopulationen der Tumor drainierenden Lymphknoten und Milzen von CD73-knock-out-Mäusen und verglich diese mit denen von C57BL/6 Wildtypmäusen.

Die Untersuchung der Tumor drainierenden Lymphknoten von Wildtypmäusen mit und ohne RET-Melanom zeigte eine deutliche Verringerung der T-Zellen. Die RET-Melanom tragenden C57BL/6 Mäuse zeigten zudem eine Erhöhung von MHCII+ Leukozyten und CD19+ CD24+ Leukozyten. Die Ausschaltung des CD73-Gens hatte in meinen Experimenten keinen Einfluss auf die Auswirkungen der RET-Melanome.

Die Untersuchungen der Milzen zeigten keinen Unterschied zwischen den Wildtypmäusen und den CD73-knock-out-Mäusen jeweils mit oder ohne Tumor.

Besonders interessant war die Beobachtung der Erhöhung von CD19+ CD24+ Leukozyten in den Melanom drainierenden Lymphknoten. Der CD19+ CD24+ Phänotyp ließ den Schluss zu, dass es sich um regulatorische B-Zellen (Bregs) handelt. Zur Überprüfung dieser Hypothese wurde die IL-10-Produktion von CD19+ B-Zellen aus dem Peritoneum untersucht, weil die IL-10-Produktion Bregs funktionell charakterisiert. Bei der vergleichenden FACS-Analyse der Peritonealzellen von Wildtypmäusen mit und ohne RET-Melanom zeigte sich eine deutlich erhöhte IL-10-Produktion der B-Zellen in den Tumormäusen. Dies untermauerte die These, dass es sich bei den im Tumor drainierenden Lymphknoten befindlichen CD19+ CD24+ Leukozyten um Bregs handelte.

Es ist bekannt, dass Tumoren sich zur Abwehr der körpereigenen Anti-Tumor-Immunantwort immunsuppressive Leukozyten rekrutieren. Daher wurde der Einfluss des RET-Melanoms auf die Expression von Oberflächenmolekülen von bEnd.3-Endothelzellen durch Kokulturerperimente untersucht. In diesen zeigte sich eine relevante Erhöhung des P-Selektins auf den mit RET-Tumorzellen kokultivierten Endothelzellen.

Ferner wurde die Rolle von Adenosin in der Veränderung der Oberflächenmolekülausstattung durch das RET-Melanom untersucht, indem die Zellkulturen mit dem CD39-Antagonisten POM-1 behandelt wurden. Die Ergebnisse zeigten keinen relevanten Einfluss von CD39 auf die in meinen Experimenten untersuchten Marker.

In anderen Arbeiten wurde die Interaktion und Bindung von P-Selektin und dem CD24-Molekül beschrieben. Diese bekannte Interaktion von CD24 und P-Selektin führte zu der Hypothese, dass das RET-Melanom durch seinen Einfluss auf das Endothel und die dortige Erhöhung der P-Selektin-Expression möglicherweise CD24+ Bregs rekrutierte. Zur Überprüfung dieser These wurden Adhäsionsexperimente durchgeführt. Diese ergaben einen deutlichen Anstieg der Adhäsion von CD19+ Zellen an bEnd.3-Endothelzellen, wenn diese

zuvor mit Melanomzellen kokultiviert wurden. Die Blockierung von CD24 mittels eines anti-CD24-Antikörpers führte im Einklang mit der Hypothese zu einer deutlich geringeren Adhäsion der CD19+ B-Zellen an das mit RET-Zellen kokultivierte Endothel.

Zusammenfassend ergab sich aus den Experimenten die These, dass RET-Melanome die Expression von P-Selektin auf Endothelzellen erhöhen. Durch diese erhöhte Oberflächenexpression von P-Selektin binden vermehrt CD24+ regulatorische B-Zellen an das Endothel und können dieses durchwandern. In der Tumorumgebung angekommen wehren sie durch Produktion von IL-10 die Anti-Tumor-Immunantwort des Körpers ab und fördern somit die Tumorprogression.

Die Hoffnung der neu gewonnenen Erkenntnisse liegt in dem Verständnis der Immunabwehr der Melanome, welche dazu verwendet werden kann, um die bisherigen Therapiemöglichkeiten zu verbessern und neue zu entwickeln. Um den endgültigen Beweis der Hypothese zu erbringen und hieraus Therapiemöglichkeiten abzuleiten, müssen noch weitere Experimente durchgeführt werden.