



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

**Immunmodulation durch die Ektonukleotidasen CD39 und CD73  
beim Pankreaskarzinom**

Autor: Andreas Mathes  
Institut / Klinik: Chirurgische Klinik der Medizinischen Fakultät Heidelberg  
Doktorvater: Prof. Dr. A. Bazhin

Das Pankreaskarzinom ist einer der aggressivsten und zugleich am schlechtesten zu therapierenden soliden Tumore, sodass dringend neue Erkenntnisse hinsichtlich der Tumorbiologie und der Interaktion des Tumors mit dem Organismus erlangt werden müssen. Die Fähigkeit des Tumors, sich der Kontrolle des Organismus zu entziehen, ist dabei ein interessanter Aspekt. Es wird also nicht mehr rein nach dem unkontrollierten Zellzyklus der Tumorzellen gefragt, sondern auch danach, warum das Immunsystem entartete Zellen nicht effektiv bekämpft.

Ein möglicher Mechanismus dieses sogenannten Immunoescapes, des für ein ungehindertes Wachstum nötigen Entzugs der Tumorzelle aus der Kontrolle des Immunsystems, ist das extrazelluläre Anhäufen immunsuppressiver Stoffe. In der vorliegenden Arbeit wurden die Ektonukleotidasen CD39 und CD73, die extrazelluläres ATP zu immunsuppressivem Adenosin abbauen, insbesondere bezüglich ihrer Expression auf Zellen des Immunsystems im Rahmen von Tumorgeschehen untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass CD73 Knockout Mäuse nach Implantation von Panc02-Tumorzellen signifikant länger überlebten und seltener Tumoren entwickelten als Wildtyp C57/BL/6 Mäuse. Diese Ergebnisse könnten auf Effekte von CD73 oder Adenosin, das normalerweise durch CD73 entsteht, auf beispielsweise die Neovaskularisierung oder die Beeinflussung des Immunsystems zurückzuführen sein. Um die Rolle des Immunsystems insbesondere am Beispiel der CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten besser zu verstehen, wurde auf funktioneller Ebene die Wirkung dieser Zellen untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass die Degranulation von CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten aus Panc02-Tumoren, die mit Panc02-Zellen kokultiviert wurden, positiv mit der Rate toter Panc02-Zellen korreliert. Sowohl die Degranulation als auch die Rate toter Panc02-Zellen wurden durch Adenosin deutlich verringert. Somit konnte die grundsätzliche Annahme, dass die vermehrte Bildung von Adenosin ein Mechanismus für Immunoescape ist, bestätigt werden.

Da Adenosin nachgewiesenermaßen großen Einfluss auf das Tumorwachstum und Verhalten von CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten hat, die Expression von CD39 und CD73 bisher aber vor allem auf immunregulatorischen Zellen untersucht wurde, wurden in dieser Arbeit CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten und deren Subpopulationen, aber auch CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten und MDSC hinsichtlich ihrer Expression von CD39 und CD73 analysiert.

Bei Tumorwachstum verändert sich die Zusammensetzung der CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten, insbesondere findet bei tumorinfiltrierenden Zellen eine Verschiebung hin zum Effektor und Effektor Memory Typ statt, die Effektor Memory Zellen stellen den größten Anteil der tumorinfiltrierenden CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten dar. Die tumorinfiltrierenden Effektor Memory Zellen haben einen größeren Anteil CD39 und CD73 exprimierender Zellen als die entsprechende Population in Milzen tumortragender Mäuse. Außerdem wurde eine positive Korrelation für den Anteil tumorinfiltrierender Effektor CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten, die CD39 exprimieren, und dem Tumolvolumen gezeigt.

Insgesamt zeigt sich für CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten bei Tumorwachstum eine deutlich erhöhte Kapazität zur Hydrolyse von ATP zu Adenosin und damit ein anzunehmender immunsuppressiver Mechanismus eigentlich nicht primär regulatorischen Immunzellen.

In vitro konnten nur einzelne der in vivo auf CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten gemessenen Effekte durch Inkubation von Splenozyten in Medien mit verschiedenen Zusätzen imitiert werden und somit kein einzelner löslicher Faktor identifiziert werden, der die in vivo gemessenen Veränderungen auslöst. Es scheint, als ob die zelluläre Aktivierung zusammen mit dem immunsuppressiven extrazellulären Mikromilieu des Tumors die oben beschriebenen Veränderungen bewirkt.

Auf CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten werden CD39 und CD73 auf einem großen Anteil der Zellen exprimiert, wobei die Veränderungen auf T<sub>H</sub> stärker ausgeprägt sind als auf den T<sub>reg</sub>, bei denen die extrazelluläre

Adenosinproduktion bereits als Mechanismus zur Immunsuppression/Terminierung einer Immunantwort identifiziert wurde und elementarer Bestandteil der enzymatischen Ausstattung zu sein scheint.

Insgesamt erscheint die hier untersuchte Expression von CD39 und CD73 innerhalb des Immunsystems und insbesondere auf T-Lymphozyten weit verbreitet. Eine funktionelle Relevanz kann als wahrscheinlich angenommen werden. Daraus ergeben sich zwei relevante Schlußfolgerungen für eine mögliche spätere Translation in die Klinik:

Grundsätzlich erscheinen CD39 und CD73 als vielversprechende therapeutische Ansatzpunkte, da sich in Knockout-Versuchen sowie bei Blockade im Tumormodel deutliche Überlebensvorteile im Tierexperimentellen Rahmen zeigten.

Durch die u.a. hier demonstrierte weite Verbreitung der beiden Ektonukleotidasen ist bei der Beeinflussung ihrer Funktion ein großes Nebenwirkungsspektrum zu erwarten. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit einer gezielten Therapie, also beispielsweise die Hemmung der Funktion auf einer spezifischen Subpopulation wie z.B. den Effektor Memory CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten.

Insgesamt kann in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass die Expression von CD39 und CD73 auf CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten aber auch auf T<sub>H</sub> möglicherweise ein wichtiger und in Zukunft für die Therapie des Pankreaskarzinoms (oder anderer Tumore) entscheidender Faktor sein könnte. Die Schaffung eines immunsuppressorischen Extrazellulärspaces ist vor allem als immunregulatorischer Mechanismus der T<sub>reg</sub> bekannt, könnte aber insbesondere im Tumor auch maßgeblich von CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten mitbeeinflusst werden. CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten sind bisher nicht wegen ihrer immunregulatorischen Fähigkeiten bekannt, sodass dieser Mechanismus ein neues Licht auf die Funktion dieser Zellen wirft.