

Katharina Morgane Zamzow
Dr. med.

Charakterisierung der Immuninfiltration im Rahmen der Karzinogenese der intraduktalen papillären muzinösen Neoplasie des Pankreas

Fach: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Christoph Michalski

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, wie einzelne Komponenten des Immunsystems die intraduktale papilläre muzinöse Neoplasie des Pankreas infiltrieren und wie sich dies mit zunehmendem Dysplasiegrad der Läsion im Rahmen der Karzinogenese verändert.

Die intraduktale papilläre muzinöse Neoplasie wird häufig als Zufallsbefund in Bildgebungen diagnostiziert. In der Mehrzahl der Fälle ist sie gutartig, jedoch stellt sie die häufigste zystische Vorläuferläsion des duktales Adenokarzinoms im Pankreas dar. Im Rahmen der Adenom-Karzinom-Sequenz kann sie sich zu einem Pankreaskarzinom auf Basis einer intraduktalen papillären muzinösen Neoplasie entwickeln. Das Pankreaskarzinom ist in Deutschland die vierthäufigste tumorbedingte Todesursache und damit ein wichtiger Fokus aktueller Forschung.

Eine Aufgabe des Immunsystems ist es, entartete Zellen zu zerstören, bevor Malignome entstehen und vorhandene Malignome zu bekämpfen. Allerdings gibt es zahlreiche Mechanismen der Tumorevasion, die das Immunsystem an der Tumorbekämpfung hindern. So erzeugen sie eine Tumorumgebung, die suppressive Immunzellen anzieht und den Angriff durch andere Immunzellen verhindert. Im Pankreaskarzinom ist dies bereits untersucht worden. In dieser Arbeit soll deswegen der Fokus auf den Verlauf der Immuninfiltration schon während der frühen Stadien der Karzinogenese gelegt werden und diese mit dem Karzinom verglichen werden.

Die Hypothese ist, dass die protumorigenen Zellen während der Karzinomentstehung einen zunehmend großen Anteil der Immuninfiltration stellen, während Zeichen der effektiven Tumorbekämpfung und die Anwesenheit antitumorigener Zellen abnehmen. Ein Fokus dieser Arbeit ist die differenzierte Betrachtung der T-Zellsubgruppen, da diesen unterschiedliche Wirkungen in der Tumorumgebung zugeschrieben werden. Es wird vermutet, dass die als antitumorigen geltenden T-Zellen vom Typ 1 abnehmen, während der protumorigene Typ 2 und die regulatorischen T-Zellen zunehmen. Zudem soll das Infiltrationsmuster weiterer T-Zellsubklassen, deren Wirkung auf den Tumor nicht geklärt ist, mit diesen verglichen werden.

In der Arbeit wurden 70 Pankreasgewebe von Patienten analysiert, die pathologisch als intraduktale papilläre muzinöse Neoplasie verschiedener Dignitäten oder als Pankreaskarzinom auf Basis einer intraduktalen papillären muzinösen Neoplasie klassifiziert wurden. Dabei wurden immunhistochemisch in Einzel- und Doppelfärbungen verschiedene Immunzelltypen auf konsekutiven Schnitten markiert. Die Quantifizierung der Zellen erfolgte im Bezug zu ihrer Lage in verschiedenen Gewebekompartimenten. So wurde das Gewebe in direkt juxtatumoral, Stroma, angrenzende Azinusgewebe und tertiäre lymphatische Organe aufgeteilt. Letztere ähneln von Aufbau und Funktion den Lymphknoten als wichtiger Teil der adaptiven Immunantwort. Gezählt wurden die Zellen mithilfe eines Computerprogramms,

das für die Einzelfärbungen die Zellen zählt und für die Doppelfärbungen die positiven Zellen markiert, sodass diese per Hand ausgezählt werden konnten.

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mittels Mann-Whitney-U-Test für non-parametrische Verteilungen. Es wurde die Zelldichte unterschiedlicher Zellen gegeneinander und in Bezug zu ihrer Lokalisation und der Gewebedignität verglichen.

Insgesamt zeigte sich, dass eine Vielzahl von Leukozyten bereits im Adenom nachweisbar ist, wobei sich die Zusammensetzung der Zellen während der Karzinogenese verändert. Zudem bilden sich zunehmend größere und differenziertere tertiäre lymphatische Organe aus.

Diese bestehen vor allem aus dendritischen Zellen, B- und T- Zellen. Mit zunehmender Malignität steigt vor allem der Anteil der regulatorischen T-Zellen, während reife dendritische Zellen nur konstant bleiben und die Dichte der T-Effektorzellen mit steigendem Tumorgrad abnimmt.

Unter den Zellen der angeborenen Immunantwort verändern neutrophile Granulozyten ihr Infiltrationsmuster im Verlauf der Karzinogenese nicht. Makrophagen und unreife dendritische Zellen gewinnen mit Steigerung des Dysplasiegrades hingegen an quantitativer Bedeutung. Es wird davon ausgegangen, dass diese in zunehmendem Maße suppressive Wirkungen vermitteln, wie es im Pankreaskarzinom beobachtet wurde.

T-Zellen sind im Gegensatz zu den Makrophagen von Anfang an in der intraduktalen papillären muzinösen Neoplasie gleichbleibend vertreten, sodass ihnen eine wichtige Rolle schon früh in der Karzinogenese zugesprochen werden kann. Einen starken Anstieg während der Karzinogenese zeigen die regulatorischen T-Zellen. Die T-Effektorzellen allerdings zeigen trotz vermuteter unterschiedlicher Wirkung ähnliche Infiltrationstendenzen. Sie werden in Tumornähe zunehmend rarer. Zytotoxische T-Zellen akkumulieren zusätzlich im tumorfernen Stroma.

Insgesamt kann damit die Hypothese bestätigt werden, dass protumorigene Zellen wie regulatorische T-Zellen und Makrophagen sich anreichern. Die tertiären lymphatischen Organe als Zeichen einer Immunantwort wachsen zwar, werden aber ebenfalls von regulatorischen T-Zellen eingenommen. Die T-Effektorzellen nehmen dagegen ab, sodass die Hypothese revidiert werden muss, dass sich anhand ihrer vermuteten Wirkweise auch unterschiedliche Infiltrationsmuster zeigen.

Dies weist aber darauf hin, dass es einen für alle T-Effektorzellen bestimmenden Faktor gibt, der sie an der Migration zum Tumor in die tertiären lymphatischen Organe hindert oder sie umdifferenziert. Faktoren sind dabei die zunehmend den Tumor umgebende desmoplastische Fibrose sowie die vom Tumor und suppressiven Immunzellen sezernierte Faktoren.

Dies zeigt, dass sich die suppressive Immunumgebung des Pankreaskarzinoms in der Tumorentstehung erst aufbaut. Das bedeutet, dass eine auf T-Effektorzellen gerichtete Therapie möglichst früh ansetzen sollte, um einen großen Effekt zu erzielen und dass den hemmenden Faktoren entgegengewirkt werden muss. Dabei muss angemerkt werden, dass die funktionale Komponente der T-Zellen hier nicht untersucht werden konnte, sodass ihr differenzierter Effekt auf den Tumor noch weiter erforscht werden muss.

Es wurde gezeigt, dass T-Zellen eine große Bedeutung in der Entwicklung von IPMNs haben, da gerade zu Anfang eine enge Verbindung zum Tumor haben. Eine durch diese Arbeit

angestoßene genauere Charakterisierung der T-Zellinteraktionen bietet damit das Potential für neue Strategien der Bekämpfung von IPMN und PDAC.