

Boyu Liao

Dr. med.

Interaction Between Human Innate Leukocytes And Irradiated Tumor Cells

Fach/Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

Doktorvater: Prof. Dr. Dr. Peter Huber

Die Strahlentherapie ist eine häufige und wichtige Behandlungsmodalität bei vielen Tumorarten. Ionisierende Strahlung kann Tumorzellen nicht nur direkt z.B. mittels DNA Schäden abtöten, sondern kann auch antitumorale Wirkung durch Immunreaktionen auslösen. Die Rolle des angeborenen Immunsystems bei der Behandlung von Tumoren wird hierbei zunehmend gewürdigt. Natürliche Killerzellen (NK Zellen) als Bestandteil des angeborenen Immunsystems werden zunehmend direkt oder indirekt zur Immuntherapie von Tumoren eingesetzt. Tumor-assoziierte Makrophagen, die hauptsächlich von Blutmonozyten abstammen und in Tumore eindringen, sind wichtige Immunzellen, die die Tumormikroumgebung beeinflussen und an der Regulierung zahlreicher komplexer Immunreaktionen in Tumoren beteiligt sind. Ziel dieser Studie war es, Auswirkungen von Bestrahlung auf die Funktion von NK-Zellen und tumorassoziiierter Makrophagen zu untersuchen.

Hierzu wurden die Auswirkungen von Bestrahlung auf die HLA-E Expression auf B-Zell-Lymphomzellen sowie die Zytotoxizität und Proliferation von NK-Zellen in Co-kultur mit B-Zell-Lymphomzellen nach Bestrahlung untersucht. Zunächst wurde gefunden, dass die Bestrahlung die HLA-E-Expression auf B-Zell-Lymphomzellen fördern kann. Die Bestrahlung verursachte auch einen Trend zu einer verstärkten NK-Zell-Degranulation als Surrogatparameter für eine größere NK-Zell-Zytotoxizität gegen Tumorzellen, allerdings erreichte dieser Effekt keine statistische Signifikanz. Andererseits konnte ich mittels CRISPR-Cas9 Knockout von HLA-E auf B-Zell-Lymphomzellen zeigen, dass HLA-E KO die Degranulation von NK-Zellen im Zusammenspiel mit Lymphomzellen nicht veränderte, was darauf hindeutet, dass HLA-E keine entscheidende Rolle bei der

kurzfristigen Degranulation von NK-Zellen spielt. In der vorliegenden Arbeit wurde auch gefunden, dass die NK-Zellproliferation nach Bestrahlung und HLA-E-Knockout zunahm, wobei neben NK-Zellen auch PBMC als Ausgangsmaterial verwendet wurden. Somit konnte ich zeigen, dass HLA-E ein wichtiger zellulärer Rezeptor ist, der die Proliferationsfähigkeit der NK-Zellen hemmt. Da INF- γ ein wichtiges Anti-Tumor Effektor-Zytokin in NK-Zellen ist, wurde die INF- γ -Konzentration in zellfreien Überständen von PBMC-Lymphomzellen-Kokulturen gemessen. Die INF- γ -Konzentrationen in bestrahlten Kokulturen waren höher als in nicht bestrahlten Kontrollen und die INF- γ -Konzentrationen stiegen in Kokulturen mit HLA-E-Knockout Lymphomzellen Zellen weiter an. Allerdings konnte als Ursache nicht sicher zwischen einer höheren INF- γ -Freisetzung pro NK-Zelle oder der steigenden NK-Zellzahl in bestrahlten Kokulturen unterschieden werden. Daher kann man schlussfolgern, daß HLA-E künftig auch eine therapeutische Zielstruktur zur Förderung der NK Zellproliferation nach Strahlentherapie sein könnte. Desweiteren ist ATP ein wichtiger Faktor bei der Aktivierung der anti-Tumor Immunantwort und kann durch CD39 und CD73 zu T-Zell-suppressivem Adenosin dephosphoryliert werden. Während eine Bestrahlung allein keine statistisch signifikanten Auswirkungen auf die CD73- und CD39-Expression hatte, konnten Glioblastomzellen die CD73-Expression auf Makrophagen induzieren, und Hypoxie verstärkte die CD73- und CD39-Hochregulierung auf Makrophagen noch weiter. Da eine Strahlentherapie den Sauerstoffstatus in Tumoren verändern kann, wäre es daher denkbar, dass die Strahlentherapie indirekt die CD73- und CD39-Expression in Makrophagen reguliert. In dieser Arbeit wurde auch gezeigt, dass Makrophagen die CD73-Expression durch direkten Zell-zu-Zell-Kontakt mit GBM-Zellen unter 2D- und 3D-In-vitro-Bedingungen und unabhängig von der Sauerstoffverfügbarkeit erwerben, ein Effekt, der unter hypoxischen Bedingungen verstärkt wurde. Dieser Prozess war mit einer Verschiebung der Makrophagenpolarisierung in einen entzündungshemmenden Status in hypoxischen Umgebungen verbunden, was insgesamt darauf hindeutet, dass CD73/CD39 eine wichtige Rolle bei der Immunantwort auf die Strahlentherapie beim Glioblastom spielen könnte.

Zusammenfassend wird durch die vorliegende Arbeit das Verständnis der Interaktion von

humanen NK-Zellen und Makrophagen mit Tumorzellen im Bestrahlungskontext erweitert, was für die Entwicklung künftiger Tumorthérapien nützlich sein könnte.