



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

**Die Gen- und Proteinexpression immunmodulatorischer
Oberflächenrezeptoren bei Thymomen und Thymuskarzinomen**

Autor: Fabian Friedrich Franz Lang
Institut / Klinik: Pathologisches Institut
Doktorvater: Prof. Dr. A. Marx

Einleitung: Thymome und Thymuskarzinome sind seltene epitheliale Neoplasien des Thymus. Besonders die Thymuskarzinome zeichnen sich durch aggressives Wachstum und die schwierige vollständige chirurgische Resektion aus, so dass diese Patienten insgesamt schlechte Überlebensprognosen aufweisen und oftmals adjuvante Therapien benötigen. Ein Baustein dieser multimodalen Therapiekonzepte könnte in Zukunft der Einsatz sog. Immuncheckpoint-Inhibitoren sein, mit deren Hilfe die eigene Immunantwort aktiviert und der Tumor bekämpft werden könnte. Die Ziele dieser vorliegende Arbeit sind i) zu klären welche Immuncheckpoints bei Thymomen und Thymuskarzinomen im Vergleich zu Normalthymi auf transkriptomischer Ebene exprimiert werden und ii) ob die auf RNA-Ebene identifizierten Oberflächenrezeptoren auch auf Proteinebene mittels Immunhistochemie in situ nachgewiesen werden können.

Material und Methoden: Es wurde RNA aus den aus der Mannheimer Thymusdatenbank stammenden Gewebeproben isoliert, in cDNA umgewandelt und die Genexpression Co-inhibitorischer und Co-stimulatorischer Oberflächenmoleküle mittels quantitativer real-time-PCR untersucht. Ebenso wurden die öffentlich zugänglichen Expressionsdaten des The Cancer Genome Atlas (TCGA) analysiert und mit der untersuchten Patientenkohorte validiert. Im Anschluss erfolgte der Proteinnachweis ausgewählter Moleküle mittels Immunhistochemie sowie funktionelle Tests zur Untersuchung zytotoxischer Eigenschaften von Immunzellen nach Inkubation mit Tumorzellen der Thymuskarzinom-Zelllinie 1889c.

Ergebnisse: RNA aus 60 Patientenproben (10 Normalthymi, 5 Kinderthymi, 8 A-Thymome, 9 AB-Thymome, 11 B2-Thymome, 8 B3-Thymome und 9 Thymuskarzinome) standen zur Verfügung. Insbesondere werden die Mitglieder der B7-Familie (PD-L1, B7H3, B7H4, B7H5 und ICOSL) bei den aggressiveren Tumortypen (B3-Thymome und Thymuskarzinome) im Vergleich zu Normalthymus verstärkt exprimiert. Für B7H3, B7H4 und GALS9 ließen sich für die Karzinome jeweils zwei Subpopulationen – eine mit starker und eine mit schwacher Expression – erkennen. Diese intertumoröse Heterogenität konnte für diese genannten Proteine (und auch PD-L1) auch immunhistochemisch nachgewiesen werden. Nach Inkubation der Tumorzellen der Zelllinie 1889c mit einem CD54-blockierenden monoklonalen Antikörper zeigen die Zytokin-induzierten Killerzellen schlechtere Zellyseraten als ohne Inkubation mit dem α -CD54 Antikörper. Ein stark verbesserter zytotoxischer Effekt der T-Zellen ist nach Inkubation der Tumorzellen mit einem CD56-blockierenden Antikörpers zu erkennen.

Diskussion: Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit erlauben die Annahme, dass aufgrund der Breite an inhibitorischer Immuncheckpoints, welche im Vergleich zu Normalthymi bei Thymuskarzinomen stärker exprimiert werden, eine einzelne Zielstruktur für eine suffiziente Immuntherapie mittels Immuncheckpoint-Inhibitoren in Zukunft nicht ausreichen wird. Außerdem scheinen aufgrund der großen intertumorösen Heterogenität und dem Auftreten von Subpopulationen individuelle Expressionsprofile der Tumore und auf diese abgestimmte Therapiekonzepte notwendig zu sein. Hierfür muss in Zukunft in kontrollierten klinischen Studien untersucht werden i) ob die Heterogenität und das Auftreten von Subpopulationen mit dem Auftreten von Nebenwirkungen und dem Ansprechen dieser Immuntherapien assoziiert sind und ii) ob diese individualisierten Therapiekonzepte in ihrer Wirksamkeit die bisher konventionellen adjuvanten Therapiemöglichkeiten übertreffen. Dass die die Immuncheckpoints blockierende Antikörper die Zellyseraten der Tumorzellen begünstigen können, demonstriert die in dieser Arbeit festgestellte verbesserte zytotoxische Eigenschaft der T-Zellen nach Inkubation der Tumorzellen mit einem CD56-blockierenden Antikörper.