



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

**Veränderungen des Tumormikromilieus durch zelluläre  
Immuntherapien in experimentellen Tumormodellen**

Autor: Xin-Wen Zhang  
Institut / Klinik: Neurologische Klinik  
Doktorvater: Prof. Dr. M. Platten

Immunsuppressive Mechanismen verschiedener Kompartimente im Tumormikromilieu verhindern den Ablauf einer Immunantwort gegen den Tumor. Ziel der Immunantwort ist die Abtötung der Tumorzellen durch zytotoxische CD8<sup>+</sup> T-Zellen. Immuntherapien werden eingesetzt, um die Immunantwort gegen den Tumor wiederherzustellen oder zu verstärken. Zelluläre Immuntherapien mit genetisch modifizierten, tumorspezifischen T-Zellen verstärken die zytotoxische T-Zell Antwort und werden für den klinischen Einsatz bei verschiedenen Tumorentitäten etabliert und getestet. Eine einzelne Immuntherapie greift jeweils einen bestimmten Mechanismus der Immunantwort an. Durch den kombinierten Einsatz verschiedener Immuntherapien oder die Kombination von Immuntherapien mit konventionellen Therapien können mehrere Mechanismen der Immunreaktion gleichzeitig adressiert werden. Diese Arbeit untersucht die Veränderung einer Immunantwort im Tumor nach Anwendung einer kombinierten T-Zell Therapie. Ziel dieser Arbeit ist es, Möglichkeiten zur Verstärkung der Wirksamkeit zellulärer Immuntherapien in präklinischen Modellen zu testen und dabei neue mechanistische Angriffspunkte im Ablauf der Immunantwort für weitere Immuntherapien zu identifizieren.

Der erste Teil dieser Arbeit untersucht eine Kombinationstherapie aus einer dendritischen Zell-Vakzinierung (DC-Vakzinierung) mit Tumorantigen-beladenen dendritischen Zellen (DC) und einem adoptiven Transfer Tumorantigen-spezifischer T-Zellen im B16 Melanom-Modell. Im Tumor sind DCs beteiligt an der Induktion einer zytotoxischen T-Zell Antwort durch Chemokin-vermittelte T-Zell Rekrutierung einerseits und T-Zell Aktivierung nach Antigen-Kreuzpräsentation andererseits. Nach Vakzinierung ist daher eine effiziente DC-Migration zum Tumor essenziell für die Effektivität der Immunantwort. In murinen Modellen autoimmuner Erkrankungen war die Expression des Aktin-assoziierten Proteins Arc/Arg3.1 entscheidend für die DC-Migration und die assoziierte Inflammation. In dieser Arbeit wird nach DC-Vakzinierung die Arc/Arg3.1-abhängige DC-Migration sowie die darauffolgende Induktion einer T-Zell basierten Immunantwort gegen den Tumor untersucht. Die DC-Vakzinierung erfolgt mit Arc/Arg3.1-exprimierenden WT-DCs und Arc/Arg3.1<sup>-/-</sup>-DCs, welche vor Vakzinierung mit einem Tumorantigen oder einem Kontrollantigen beladen werden. Die Tumorantigen-spezifische Peptidbeladung der eingesetzten DCs und das Vorhandensein injizierter DCs im Tumor bedingt die therapeutische Effektivität der DC-Vakzinierung. Die Arc/Arg3.1-Expression ist hierbei entscheidend für die Migration der DCs zum Tumor und die Rekrutierung der adoptiv transferierten T-Zellen. Eine gentechnisch induzierte Arc/Arg3.1-Überexpression in DCs führt zusätzlich zu einer Verstärkung der DC Migration und der entsprechenden T-Zell Antwort. Damit wird Arc/Arg3.1 als Schlüssel-molekül für DC-Migration im Tumor bestätigt und als potenzieller Ansatzpunkt für eine Verstärkung der therapeutischen Wirksamkeit von DC-Vakzinierungen identifiziert.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wird eine Kombinationstherapie aus lokaler Tumorbestrahlung und adoptivem Transfer Tumorantigen-spezifischer T-Zellen im Gliom-Modell untersucht. Um den Effekt einer lokalen Tumorbestrahlung auf die Effektivität verschiedener Formen von Immuntherapien im malignen Gliom zu untersuchen, wurde ein syngenes murines Gliommodell (GL261) etabliert, welches das *Major histocompatibility complex* (MHC)-Klasse I-restringierte Modell-Antigen Glykoprotein-100 (gp100) exprimiert. Es erfolgt eine niedrigdosierte, fraktionierte lokale Tumorbestrahlung mit 2 Gy an vier aufeinanderfolgenden Tagen in Kombination mit einem adoptiven Transfer gp100-spezifischer T-Zellen.

Basierend auf einem synergistischen therapeutischen Effekt einer lokalen Bestrahlung und einer Immuntherapie mit Tumorantigen-spezifischer Peptidvakzinierung wird in dieser Arbeit der Einfluss der lokalen Tumorbestrahlung auf einzelne Kompartimente des Tumormikromilieus untersucht. Die lokale Tumorbestrahlung führt zur erhöhten Infiltration antigenspezifischer T-Zellen und verstärkt die T-Zell

Aktivität im Tumor. Nach Bestrahlung werden adoptiv transferierte, *in vitro* polarisierte M1-Makrophagen zum Tumor rekrutiert. Durch eine strahleninduzierte erhöhte Expression der Adhäsionsmoleküle VCAM-1 und Selectin auf Endothelzellen wird die Extravasation der T-Zellen im Tumor begünstigt. Mechanistisch lässt sich die erhöhte Rekrutierung der Immunzellen auf eine strahleninduzierte verstärkte Sekretion von Chemokinen wie CXCL9 und CXCL10 für CXCR3<sup>+</sup> T-Zellen und CCL2 und CSF-1 für CCR2<sup>+</sup> und CSF-1R<sup>+</sup> Makrophagen zurückführen. Zusammenfassend führt die lokale Tumorbestrahlung zur Aufhebung immunsuppressiver Mechanismen sowohl im myeloiden als auch im vaskulären Kompartiment des Tumormikromilieus und fördert damit die T-Zell-basierte Immunantwort. Diese Arbeit zeigt in zwei verschiedenen präklinischen Tumormodellen, wie kombinierte Immuntherapien die Immunaktivität im Tumormikromilieu fördern. Damit bildet diese Arbeit eine präklinische Grundlage für den klinischen Einsatz von Kombinationstherapien aus adoptivem T-Zell Transfer mit einer DC Vakzinierung bzw. mit einer Radiotherapie und bietet neue Ansatzpunkte für die Weiterentwicklung zur Wirkungsverstärkung der Immuntherapien.