



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

**Untersuchung der NK-Zell-vermittelten Zytotoxizität gegenüber
Thymus- und Lebertumorzellen: Einfluss der Chemotherapie und
Etablierung eines 3D-Sphäroidmodells**

Autor: Susanne Kleiner

Institut / Klinik: Klinik für Anästhesiologie, Operative Intensivmedizin und
Schmerzmedizin

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. H. A. Lindner

Das Immunsystem des Menschen besteht aus dem angeborenen und dem erworbenen Teil, die eng miteinander interagieren, sich jedoch in Schnelligkeit und Spezifität ihrer Reaktion unterscheiden. Natürliche Killerzellen (NK-Zellen) sind Teil des angeborenen Immunsystems und zeichnen sich durch ihre Fähigkeit aus, entartete oder virusinfizierte Zellen ohne vorherige Antigenpräsentation zu erkennen und abzutöten. Ihre Funktion basiert auf einem Gleichgewicht aus inhibitorischen und aktivierenden Rezeptorsignalen, wobei ein Verlust der MHC-I-Expression auf Zielzellen zu ihrer Aktivierung führt. NK-Zellen eliminieren Zielzellen vor allem durch Freisetzung zytotoxischer Granula, die Apoptose-induzierende Signalwege aktivieren. Im Kontext der Tumorummunologie gewinnen NK-Zellen zunehmend an Bedeutung, da sie über das Potenzial verfügen, nicht nur Primärtumoren, sondern auch Metastasen effektiv zu bekämpfen. Bereits in den 1970er-Jahren wurde ihre Rolle in der immunologischen Tumorüberwachung erkannt. Angesichts steigender Krebsinzidenzen in industrialisierten Ländern und der Fähigkeit von Tumorzellen, dem Immunsystem zu „entgehen“, rückt die Entwicklung NK-Zell-basierter Immuntherapien zunehmend in den Fokus. Aufgrund dieser Eigenschaften gelten NK-Zellen als vielversprechender Bestandteil zukünftiger immuntherapeutischer Strategien in der Onkologie.

Ziel dieser Dissertation war es, die bisherigen Erkenntnisse zur anti-tumoralen Aktivität von NK-Zellen zu erweitern. Im Zentrum der experimentellen Untersuchungen stand die Analyse des Einflusses von NK-Zellen auf die Viabilität von Tumorzellen in einem etablierten Koinkubationsmodell. Dabei wurden sowohl das Ausmaß der durch NK-Zellen vermittelten Zytotoxizität als auch die Induktion apoptotischer Prozesse mittels durchflusszytometrischer Verfahren untersucht. Zudem sollte die Expression des Poliovirusrezeptors (PVR), der die Proliferation und Invasion von Krebszellen fördert, auf Tumorzellen sowie seine Modulation im Kontakt mit NK-Zellen analysiert werden.

Ein weiterer Schwerpunkt lag auf der Evaluierung möglicher synergistischer Effekte zwischen den Anti-Tumoraktivitäten von ausgewählten Chemotherapeutika bei anschließender Inkubation der Tumorzellen mit NK-Zellen. Auch die Auswirkungen einer Glukosereduzierung im Tumormedium auf die NK-Zell-vermittelte Zytotoxizität sollten näher betrachtet werden. Hierbei sollte überprüft werden, ob eine kombinierte Anwendung die antitumorale Wirksamkeit der NK-Zellen gegenüber den verwendeten Tumorzelllinien gesteigert werden kann. Ergänzend dazu wurde die Etablierung eines dreidimensionalen Tumormodells auf Sphäroidbasis angestrebt, um zukünftig physiologisch relevantere Bedingungen für weiterführende Analysen zu schaffen. Für sämtliche Untersuchungen kamen die Tumorzelllinien HepG2 und TY82 zum Einsatz.

Die Auswertung der Versuchsergebnisse zeigt deutlich, dass eine Koinkubation mit NK-Zellen zu einer signifikanten Reduktion der Tumorzellviabilität führte, vor allem durch die Induktion von Apoptose. Bei den HepG2- und TY82-Zellen wurde bereits in der frühen Interaktionsphase eine ausgeprägte zytotoxische Aktivität beobachtet, begleitet von einer schnellen NK-Zell-Aktivierung (Degranulation) und einer erhöhten GLUT-1-Expression. Die getestete Kombinationstherapie mit Chemotherapeutika (Etoposid, Cisplatin) führte zu keinen synergistischen Effekten. Es deutet im Gegenteil auf mögliche negative Wechselwirkungen hin, was die Notwendigkeit einer sorgfältigen Optimierung hinsichtlich Dosis und zeitlicher Abfolge betont. Darüber hinaus zeigte der PARP-Inhibitor Olaparib, der zur Behandlung von Ovarialkarzinomen verwendet wird, nur eine begrenzte immunmodulatorische Wirkung in frühen Phasen der Koinkubation, aber ebenfalls keinen synergistischen Effekt. Der beobachtete Zelluntergang ab 48 Stunden legt nahe, dass weitere Studien zur Rolle nicht-apoptotischer

Zelltodmechanismen wie Parthanatos erforderlich sind. Weitere Modalitäten während des Versuches, wie eine unterschiedliche Glukosekonzentrationen im Kulturmedium hatten keinen signifikanten Einfluss auf die NK-Zell-vermittelte Zytotoxizität. Ebenso wurde in beiden Zelllinien ein Rückgang der PVR-Expression nach NK-Zell-Kontakt festgestellt, wobei dieser bei HepG2 statistisch signifikant war und einen direkten regulatorischen Effekt vermuten lässt. Abschließend konnten erfolgreich dreidimensionale Tumorsphäroide aus TY82- und HepG2-Zellen etabliert werden, die ein valides präklinisches Modell zur weiterführenden Untersuchung der NK-Zell-basierten Immuntherapie darstellen.

Aus den Ergebnissen dieser Arbeit geht hervor, dass der direkte Kontakt mit Tumorzellen zu einer signifikanten Steigerung der zytotoxischen Aktivität von NK-Zellen führte, insbesondere gegenüber der soliden Tumorzelllinie TY82. Da Immuntherapien bislang vor allem bei hämatologischen Neoplasien Erfolge verzeichnen, während ihre Wirksamkeit bei soliden Tumoren als limitiert gilt, ist dieser Befund von besonderer Relevanz. Die beobachtete Empfindlichkeit der Chemotherapie-resistenten TY82-Zelllinie gegenüber NK-Zell-vermittelter Zytotoxizität deutet auf ein potenzielles therapeutisches Fenster hin und unterstreicht die Bedeutung der NK-Zellen als vielversprechende Option in der Behandlung solider Tumoren.