



Tumor-Immunüberwachung durch Natürliche Killer (NK) Zellen: Molekulare Mechanismen und therapeutische Modulation

Helmut Salih

Wissenschaftliche Grundlagen

Natürliche Killerzellen (NK Zellen) sind zytotoxische Lymphozyten und spielen als Bestandteil des angeborenen Immunsystems komplementär zu den CD8 T Zellen des erworbenen Immunsystems eine wichtige Rolle bei der Immunabwehr von Tumoren. NK Zell-Reaktivität gegen Tumoren wird durch das Fehlen von MHC Klasse I Molekülen (missing self) induziert. Zudem ist für eine Aktivierung die Erkennung von tumorexprimierten Liganden für aktivierende NK-Rezeptoren wie z.B. NKG2D (induced self) erforderlich. Die Aktivierung von NK Zell Anti-Tumor Effektormechanismen spielt u.a. eine zentrale Rolle für den klinischen Erfolg der allogenen Stammzelltransplantation bei Leukämiepatienten und die Wirksamkeit von therapeutisch applizierten Antikörpern. Letztere stimulieren nach Bindung an ihr Zielantigen den Fc-Rezeptor auf NK Zellen und lösen dadurch „Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity“ (ADCC) aus. Insgesamt wird die Immunantwort von NK Zellen also durch eine Balance aus verschiedenen aktivierenden und hemmenden Signalen reguliert. Darüber hinaus wird ihre Reaktivität durch die reziproke Interaktion mit anderen zellulären Komponenten des Immunsystems (z.B. dendritische Zellen, Monozyten, etc.) beeinflusst. In Anbetracht der wichtigen Rolle von NK Zellen bei der Tumorabwehr ist es von großem wissenschaftlichem, aber auch therapeutischem Interesse, die an der Interaktion von NK Zellen mit Tumorzellen und/oder anderen hämatopoetischen Zellen beteiligten Molekülsysteme detailliert zu charakterisieren. Dies gilt umso mehr, da gegenwärtig zahlreiche therapeutische Strategien darauf abzielen, z.B. durch Antikörper gegen Immunrezeptoren die Reaktivität von zytotoxischen Lymphozyten wie NK Zellen und CD8 T Zellen zu stimulieren.

Ziele

Unser Ziel ist die Entwicklung von Strategien zur Verstärkung der NK Zell-Reaktivität für den Einsatz bei Patienten mit malignen Erkrankungen, insbesondere Leukämien. Hierbei reicht das Spektrum unserer Arbeiten von der Aufklärung der molekularen Grundlagen der Interaktion von NK Zellen mit Tumorzellen und

anderen Komponenten der Hämatopoese über die Identifizierung von therapeutischen Substanzen, welche die Expression von immunmodulatorischen Molekülen zu Gunsten einer NK Aktivierung beeinflussen bis zur Entwicklung von rekombinanten Molekülen, durch welche NK Zellen gerichtet gegen Tumorzellen aktiviert werden können.

Strategie

Gemeinsam mit unseren Kooperationspartnern identifizieren und charakterisieren wir unter Verwendung eines breiten Spektrums molekularbiologischer, zellbiologischer und proteinbiochemischer Methoden Molekülsysteme, welche die NK Zell-Reaktivität beeinflussen. Hierbei interessieren wir uns im Hinblick auf eine mögliche therapeutische Modulation insbesondere auch für funktionelle Unterschiede scheinbar analoger Molekülsysteme in

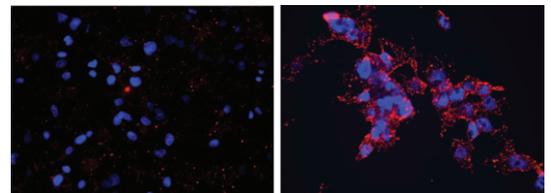


Abb. 1: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme einer therapeutischen Induktion von NK Zell-aktivierenden Molekülen auf Tumorzellen (Hep3B). Unbehandelte (links) Tumorzellen weisen nur eine geringe Expression der immunaktivierenden NKG2D Liganden (orange) auf. Behandlung mit niedrigdosiertem Bortezomib (rechts) führt zu einer ausgeprägten Zunahme der Expression. Hierdurch können NK Zellen die Tumorzellen besser erkennen und abtöten.

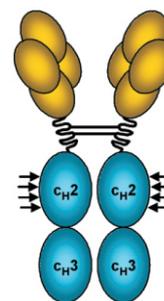


Abb. 2: Schematische Darstellung eines rekombinanten Fusionsproteins bestehend aus der extrazellulären Domäne eines hemmenden NK Zell-Rezeptors (gelb) und einem affinitätsverstärkten Fc Teil eines humanen IgG1 Antikörpers (blau). Die Pfeile symbolisieren den Anteil, an welchem durch Aminosäureaustausch die Bindung an den Fc Rezeptor von NK Zellen verstärkt wird. Durch die Neutralisation der immunsuppressiven Eigenschaften des Zielmoleküls und die gleichzeitige Aktivierung des Fc Rezeptors wird die Anti-Tumorreaktivität der NK Zellen gesteigert.

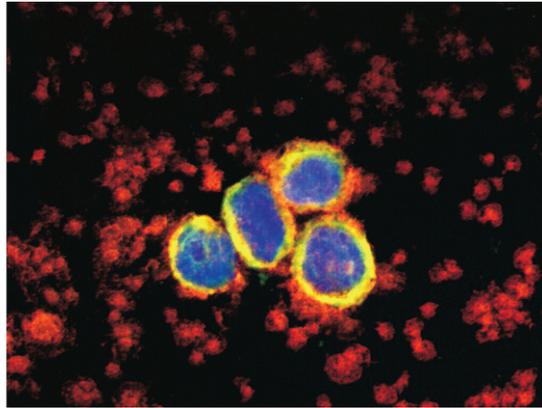
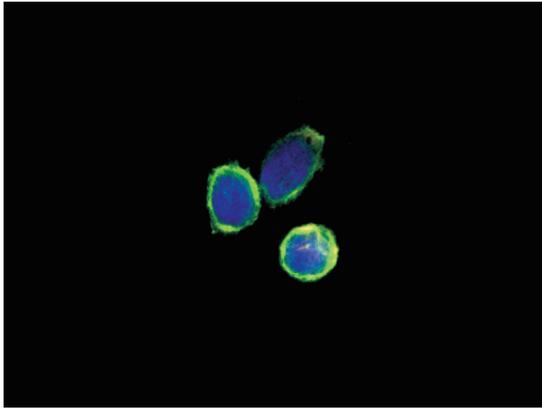


Abb. 3: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme der Übertragung von immuninhibitorischen Molekülen auf Tumorzellen (grün/blau) durch Thrombozyten (orange). Während die untersuchten Tumorzellen in diesem Beispiel konstitutiv nur geringe Mengen an MHC I (gelb) auf der Oberfläche aufweisen (links), erfolgt in Gegenwart der stark MHC I positiven Thrombozyten (orange) eine Ummantelung der Tumorzellen (rechts). Diese resultiert in einer ausgeprägten MHC I „Pseudoexpression“ (gelb), wodurch NK Zellen, welche die Tumorzellen angreifen, gehemmt werden.

Maus und Mensch. Weiterhin untersuchen wir mit dem Ziel, NK Zell-hemmende Effekte zu neutralisieren, den Einfluss anderer Zellen des Blutes wie Thrombozyten und Monozyten auf die NK Zell-Reaktivität bzw. den „Immune Escape“ von Tumorzellen. Zudem arbeiten wir z.B. an der Entwicklung und Testung von rekombinanten Immunrezeptor-Fc Fusionsproteinen, welche durch Bindung an ihre auf Tumorzellen exprimierten Liganden nicht nur die von uns vorab identifizierten NK Zell-hemmenden Effekte dieser Moleküle neutralisieren, sondern durch ihren modifizierten Fc-Teil auch eine zielgerichtete Aktivierung der NK Zellen gegen die malignen Zellen ermöglichen.

Tumor Immunosurveillance by Natural Killer (NK) cells: Molecular mechanisms and therapeutic modulation

Natural Killer (NK) cells are cytotoxic lymphocytes which play an important role in the immunosurveillance of tumors. NK reactivity is guided by the principles of 'missing-self' and 'induced-self' which imply that cells with low expression of MHC class I ('missing-self') and stress-induced expression of ligands for activating NK receptors ('induced-self') are preferentially recognized and eliminated by NK cells. In fact, NK anti-tumor responses result of an integrative response emerging upon recognition of multiple ligands for activating and inhibitory NK cell receptors. Many of these receptors are yet unknown or ill defined. Apart from the direct interaction with their target cells, NK cell activity is further influenced by the reciprocal interplay with various other hematopoietic cells. In our work we study the expression and release of immunoregulatory surface molecules by tumor (especially leukemia) cells and NK cells and aim to modulate these molecule systems therapeutically to reinforce NK cell effector functions. As seemingly analogue immunoregulatory molecules may mediate different and even opposite ef-

fects on NK cell reactivity in mice and men we comparatively analyze the therapeutic modulation of these proteins to enable the design of rational therapeutic strategies for cancer patients. Moreover, we study the possibilities to influence the interaction of NK cells with other components of the blood like thrombocytes to bolster anti-tumor immune responses. Finally we develop and test immunomodulatory proteins (optimized antibodies or Fc-fusion-proteins) which neutralize the effect of NK-inhibitory molecules on malignant cells and simultaneously enhance and direct NK cell reactivity against these tumor cells. Overall we have a profound interest to translate findings of basic research in tumor immunology into clinically relevant applications to improve therapeutic options of cancer patients.

Projektleitung

Prof. Dr. Helmut R. Salih

Eberhard Karls Universität Tübingen
Medizinische Universitätsklinik für Onkologie, Hämatologie, Immunologie, Rheumatologie, Pulmologie
Otfried-Müller Str. 10
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 83275

Fax: 0049/(0)7071/29 4391

helmut.salih@med.uni-tuebingen.de

www.med.uni-tuebingen.de/webim2/salih_hp.htm

