

## Untersuchung der Immunantwort bei Krebspatienten

Cecile Gouttefangeas

### Wissenschaftliche Grundlagen

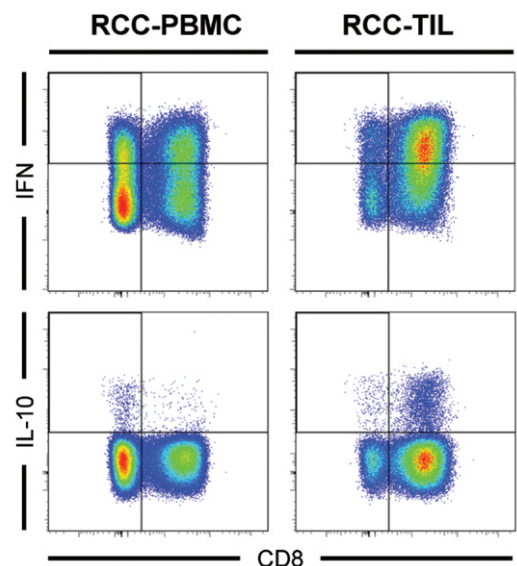
Krebszellen produzieren veränderte Eiweißstoffe, entweder durch eine neue Expression, Überexpression oder Produktion mutierter Proteine, die als Tumor-assoziierte Antigene bezeichnet werden. Jeder einzelne Tumor exprimiert mehrere dieser Antigene, und Tumore von verschiedenen Zelltypen tragen gemeinsame, aber auch Gewebe-spezifische Tumor-assoziierte Antigene. Es ist schon länger bekannt, dass Tumor-assoziierte Antigene von spezifischen B- und T-Lymphozyten des Immunsystems häufig erkannt werden. Diese anti-tumoralen Eigenschaften des Abwehrsystems können sowohl für die frühzeitige Diagnostik als auch für die Therapie von Krebspatienten eingesetzt werden. Insbesondere können die CD8 Killer T-Lymphozyten die Krebszellen abtöten. Basierend auf diesem Wissen, werden z. Zt. weltweit verschiedene Immuntherapie-Ansätze getestet, mit dem allgemeinen Ziel, eine effiziente anti-Tumor Immunantwort in Krebspatienten zu induzieren. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse zeigen, dass es im Prinzip möglich ist, das körpereigene Immunsystem gegen die Tumorzellen zu stimulieren. Eine klinische Verbesserung ist bislang jedoch nur bei einem Teil der Patienten zu beobachten gewesen. Daher ist ein erweitertes Verständnis der anti-Tumor Immunantwort von besonderer Bedeutung. Darüber hinaus werden derzeit auch verschiedene Adjuvantien zur Verstärkung der Immunantwort untersucht.

### Ziele

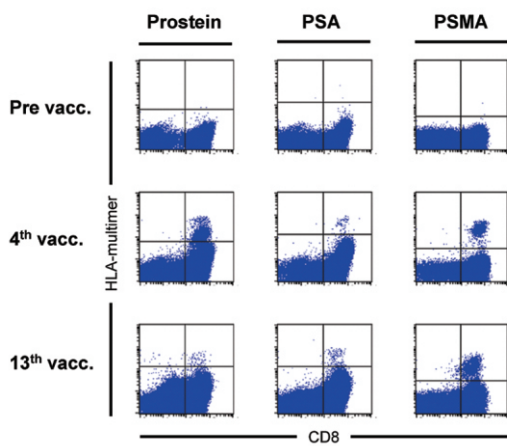
Ziel unseres Projekts ist es, die komplexen Interaktionen zwischen Tumoren und dem Antigen-spezifischen Immunsystem zu untersuchen. Dabei sind die zellulären Effektoren und die inhibitorischen Mechanismen, die an der Immunantwort beteiligt sind, von besonderer Bedeutung. Daher charakterisieren wir sowohl die Effektor- und regulatorischen T-Zellen, als auch die humorale Antwort gegen Krebsrelevante Antigene. Wir erhoffen uns dadurch die anti-Tumor Immunantwort näher charakterisieren zu können, um neue Ansätze für die Diagnose und Therapie zu entwickeln.

### Strategie

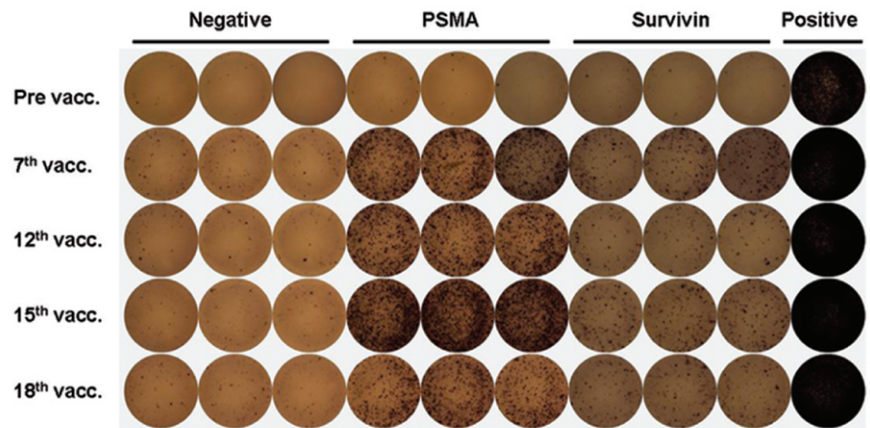
Anti-Tumor Antikörper und T-Zell Subpopulationen werden sowohl im Blut als auch im Tumorgewebe analysiert. Untersucht werden vor allem Patienten mit Nierenzell- und Prostatakarzinomen. Zusätzlich werden Patienten, die aktuell an einer T-Zell basierten Immuntherapie-Studie teilnehmen, auf die Induktion von anti-Vakzin T-Lymphozyten getestet. Dafür werden Blutzellen isoliert und verschiedene in vitro Analysen durchgeführt. Wir untersuchen neben der Antikörper vermittelten (humoralen) Immunantwort, auch Subpopulationen bestimmter T-Lymphozyten. Diese sind Effektor-, regulatorische und zytotoxische CD4 Helferzellen und CD8 Zellen, deren anti-tumorale Aktivität durch die Produktion von Zytokinen nachgewiesen wird.



**Abb. 1:** Functional subpopulations of T lymphocytes in one patient with renal cell carcinoma. Production of IFN- and IL-10 is increased in intratumoral CD8 T cells (RCC-TIL) as compared to autologous peripheral counterparts (RCC-PBMC). Intracellular cytokine staining in flow cytometry after stimulation with PMA and ionomycin.



**Abb. 2:** Monitoring of T cell response during immunotherapy: immunisation of a prostate carcinoma patient with a mix of HLA-class I and -class II synthetic peptides. Flow cytometry analysis shows the induction of CD8 T cells recognizing three peptides derived from the tumor-associated antigens Prostein, PSA and PSMA.



**Abb. 3:** Monitoring of T cell response during immunotherapy: immunisation of a prostate carcinoma patient with a mix of HLA-class I and -class II synthetic peptides. IFN- ELISPOT shows the induction of anti-PSMA and anti-Survivin CD4 T-cells. Negative = irrelevant peptide; positive= Staphylococcal enterotoxin B.

### Immunomonitoring in cancer patients

Human malignancies frequently elicit spontaneous immune responses in cancer patients. Numerous tumor-associated antigens recognized by specific antibodies and T cells have been identified over the past years, and these provide essential tools for the development of T-cell based immunotherapies. Although many trials have been carried out, therapy-induced tumor regressions have only been observed in a minority of the patients. Thus, immunotherapy is still a challenging area in which the optimal targeted antigen(s), format, dose, route and adjuvants, as well as various strategies to circumvent T-cell tolerization are being intensively tested. Immunomonitoring in cancer patients is a tedious task, since the T cell frequencies which have to be measured are often very low. Moreover, the immune responses to cancer vaccines do not correlate consistently with clinical benefit, underlying the current lack of surrogate immune marker for vaccine efficacy. We are focusing on the description of adaptive immune responses against tumors in cancer patients, either before or during therapy including immunotherapy. To this aim, fine subsets of T cells are investigated at the phenotypic and at the functional level. The antibody response against various tumor-associated antigens is also evaluated.

Additionally, we are a founding member and co-organiser of the Cancer Immunotherapy Immunoguiding Program (CIP). The aim of this young international work-

ing group is to evaluate, compare and improve the sensitivity and reproducibility of the techniques and protocols applied for the enumeration of antigen-specific T-cells, and thus to contribute to the accurate evaluation of immunotherapy trials.

### Projektleitung

Dr. Cécile Gouttefangeas

Eberhard Karls Universität Tübingen  
Interfakultäres Institut für Zellbiologie,  
Abt. Immunologie  
Auf der Morgenstelle 15  
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 80994  
Fax: 0049/(0)7071/29 5653

cecile.gouttefangeas@uni-tuebingen.de

<http://cms.elchtools.de>

