

Schriftenreihe des Lehrstuhls für Prozessmaschinen und
Anlagentechnik

Band 18

Eva-Maria Weiss

***Ex vivo* Inaktivierung autologer Tumorzellen mittels
hydrostatischen Hochdrucks zur Generierung eines
Ganzzell-basierenden Anti-Tumor-Vakzins**

D 29 (Diss. Universität Erlangen-Nürnberg)

Shaker Verlag
Aachen 2013

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Zugl.: Erlangen-Nürnberg, Univ., Diss., 2013

Copyright Shaker Verlag 2013

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-2202-5

ISSN 1614-3906

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • E-Mail: info@shaker.de

ZUSAMMENFASSUNG

Endet eine Krebserkrankung tödlich, ist das meistens auf die Bildung von Metastasen und/oder Rezidiven zurückzuführen. Ein viel versprechender Ansatz zur Überwindung dieses Problems, ist die Kombination von Standardtherapien (Strahlentherapie, Chemotherapie, Resektion) mit Immuntherapien, da diese eine spezifische, systemische und lang anhaltende Reaktion gegen maligne Zellen bewirken kann. Autologes, inaktiviertes Tumorzellmaterial kann genutzt werden, um den Organismus mit allen relevanten Tumorantigenen (TAs) zu impfen und eine Anti-Tumorimmunantwort auszulösen. Voraussetzung hierbei ist eine effektive Inaktivierung der Tumorzellen sowie eine Erhöhung des immunogenen Potentials der getöteten Zellen. Unter diesen Aspekten wurde in der vorliegenden Arbeit hydrostatischer Hochdruck als innovative Inaktivierungsmethode untersucht. Durch *in vitro* und *in vivo* Proliferationstests, sowie durch Vitalitätsuntersuchungen, konnte gezeigt werden, dass die Tumorzelllinien CT26, B16-F10, SW480 und MCF7 effektiv durch eine Druckbehandlung ab 200 MPa inaktiviert werden. Direkt nach der Inaktivierung wurde nach einer Druckbehandlung ab 400 MPa bei allen Zelllinien Nekrose nachgewiesen, während durch niedrigeren Druck (200 MPa und 300 MPa) auch Apoptose induziert wurde. Das immunogene Potential der bedrückten Tumorzellen wurde v.a. mit dem CT26-BALB/c Mausmodell *in vivo* mit verschiedenen Immunisierungsversuchen untersucht. In Vorimmunisierungsexperimenten wurde durch eine Immunisierung mit 200 MPa-inaktivierten CT26-Zellen eine Reduktion des Tumorwachstum und einer Verlängerung des Überlebens in BALB/c Mäusen erreicht. Eine weitere Verbesserung wurde durch die Kombination mit IL-12 erzielt. Die Erhöhung des IgG2a/IgG1-Verhältnisses weist auf eine Th1 polarisierte Immunantwort hin. Darüber hinaus wurde ein Langzeiteffekt durch eine zweite Tumorumplantation, nach der die Tiere tumorfrei blieben, nachgewiesen. Fand die Tumorumplantation vor der Behandlung statt, konnten bezüglich Tumorwachstum und Überlebensdauer nur geringe Effekte durch eine alleinige Immunisierung mit 200 MPa-inaktivierten Zellen erreicht werden. Allerdings wurde hierbei ein erhöhter Anteil an CD8⁺-Lymphozyten in der Milz nachgewiesen. Die Kombination von IL-12 und Impfung mit 200 MPa-inaktivierten Tumorzellen erwies sich als ein vielversprechender Heilungsansatz, um sowohl sofortige Anti-Tumoreffekte als auch langanhaltende Effekte durch die Etablierung eines immunologischen Gedächtnisses auszulösen. Auch konnte der Vorteil einer Kombination von RT und Impfung mit 200 MPa inaktivierten Zellen - gegenüber einer alleinigen RT nachgewiesen werden. Erste Versuche deuten darauf hin, dass eine zusätzliche Gabe von AnnexinA5 oder IL12 noch zur weiteren Verbesserung der Anti-Tumorreaktion führt und dass eine Hochdruckbehandlung auch die Immunogenität von Melanomzellen (B16-F10) zu erhöhen

EX VIVO INAKTIVIERUNG AUTOLOGER TUMORZELLEN MITTELS HYDROSTATISCHEN HOCHDRUCKS ZUR GENERIERUNG EINES GANZZELL-BASIERENDEN ANTI-TUMOR-VAKZINS

vermag. Einen Beitrag zum immunogenen Verhalten der Tumorzellvakzine leisten Gefahrensignale (HMGB-1 und HSP70), die im Zellüberstand HHP-inaktivierter Tumorzellen nachgewiesen worden sind. Das Zytokin IL-1 α spielt hierbei ebenfalls eine Rolle, speziell bei mit 200 MPa inaktivierten Zellen. Die präklinischen Untersuchungen haben ergeben, dass eine Vakzinierung mit durch Hochdruck inaktivierten Tumorzellen ein vielversprechender immuntherapeutischer Ansatz ist, um in Kombination mit weiteren Therapien (RT, IL12, AnnexinA5) Anti-Tumorimmunität zu erzielen.