

Beeinflussung antigenspezifischer humaner T-Zellen durch die Blockade von CD152 (CTLA-4)

Für die vollständige Aktivierung naiver T-Zellen und für ihre Differenzierung in Effektorzellen sind neben dem antigenspezifischen Signal über den TCR weitere kostimulatorische Signale erforderlich. Das nachhaltigste kostimulatorische Signal wird über CD28 vermittelt, welches konstitutiv auf der Oberfläche von T-Zellen exprimiert wird. Die Bindung von CD28 an seine Liganden B7.1 (CD80) und B7.2 (CD86), welche ausschließlich von APC exprimiert werden, vermindert die Aktivierungsschwelle der T-Zellen, erhöht die Expression von anti-apoptischen Faktoren wie Bcl-x_L und stimuliert die Produktion von IL-2. Das ebenfalls zur Immunglobulin-Superfamilie gehörende CD28-Homolog CTLA-4 (CD152) wird hauptsächlich auf aktivierten CD4⁺ und CD8⁺-T-Zellen exprimiert und bindet mit B7.1 und B7.2 die gleichen Liganden wie CD28, jedoch mit ca. 20fach höhere Affinität. Engagement von CTLA-4 inhibiert jedoch die Proliferation der T-Zellen indem die Expression des IL-2-Rezeptors reduziert, die IL-2 Produktion vermindert und der Zellzyklus arretiert werden. Auf diese Weise setzt CTLA-4 vermutlich die Aktivierungsschwelle herauf und verhindert so eine Aktivierung von T-Zellen mit einem niedrig affinen TCR und begrenzt evtl. darüber hinaus die klonale Expansion aktivierter T-Zellen.

Im murinen System konnte eine Blockade von CTLA-4 durch monoklonale Antikörper gegen CTLA-4 *in vitro* und *in vivo* die Immunantwort gegen eine Reihe experimenteller Tumorsysteme verstärken. Diese Verstärkung der Immunantwort war abhängig von CD4⁺ und CD8⁺-T-Zellen.

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob ähnliche Mechanismen auch bei T-Zellen des humanen Immunsystems wirken und ob sich deren anti-Tumor-Antwort durch die Blockade von CTLA-4 verstärken lässt.

Für diesen Zweck wurden monoklonale Antikörpern gegen humanes CTLA-4 verwendet, von denen einige die Bindung von CTLA-4 an die Liganden B7.1 und B7.2 blockieren. Um zu testen, welche immunmodulatorischen Eigenschaften diese Antikörper haben, wurde ein *in vitro* Testsystem etabliert, welches eine T-Zellantwort gegen Tumorzellen simuliert. Die humane Melanomzell-Linie SkMel63 und Derivate dieser Zell-Linie, die mit B7.2 transfiziert waren, wurden eingesetzt, um eine allogene Immunantwort auszulösen. Dabei sollten die Alloantigene Tumorantigene simulieren. Während aufgereinigte humane T-Zellen auf die Stimulation mit SkMel-Zellen vom Wildtyp aufgrund der fehlenden Kostimulation nicht reagierten, wurden sie durch die B7.2-Transfektanten massiv zur Proliferation angeregt.

Im Gegensatz zu Experimenten bei Mäusen war Gesamtantikörper gegen humanes CTLA-4 unwirksam. Fab-Fragment des gleichen Antikörpers war jedoch in der Lage, die Immunantwort gegen die B7-exprimierenden SkMel-Zellen zu verstärken. Der Unterschied liegt möglicherweise darin, dass bivalente Gesamtantikörper gegen CTLA-4 durch Kreuzvernetzen ein inhibitorisches Signal auslösen können, während monovalente Fab-Fragmente ein solches Signal über CTLA-4 wirklich blockieren.

Es konnte gezeigt werden, dass eine Blockade des CTLA-4 für 24 Stunden ausreichte, um die Proliferation der T-Zellen zu verstärken. Durch den Einsatz von CFSE-markierten T-Zellen wurde die Kinetik und das Proliferationsmuster dieser T-Zellen untersucht. So konnte gezeigt werden, dass eine Blockade von CTLA-4 die Kinetik der Alloantwort nicht änderte, weder bei CD4⁺ noch CD8⁺-T-Zellen. Auch die Anzahl der Zellteilungen wurde nicht beeinflusst. Die verstärkte Antwort resultierte viel mehr aus einer vermehrten Rekrutierung von T-Zellen in den Pool der aktivierten Zellen. Vermutlich verringert eine Blockade von CTLA-4 durch die Fab-Fragmente die Aktivierungsschwelle, so dass jetzt auch Zellen mit einem niedrigaffinen TCR aktiviert wurden. Eine weitere Charakterisierung der proliferierenden Zellen konnte zeigen, dass die zusätzlich aktivierten Zellen auch Effektorfunktion entwickelten, da sie verstärkt IFN- γ exprimieren. Möglicherweise ist dies ein Indiz dafür, dass eine Blockade von CTLA-4 die Immunantwort in Richtung einer T_H1-Antwort lenkt.