

Wie Krebszellen das zelluläre Immunsystem für ihre Zwecke nutzen!

Heinz-Jürgen Bach

Zusammenfassung

Komplexe Mechanismen auf zellulärer und humoraler Ebene, die von Krebszellen selbst induziert und unterhalten werden können, ermöglichen es malignen Tumoren, der Immunsurveillance zu entgehen. Die quantitative zelluläre Zusammensetzung der Immunzellen und deren funktioneller Zustand lassen sich durch die Durchflusszytometrie und fluoreszenzmarkierte Antikörper erfassen (Immunstatus). Untersuchungen an einer Vielzahl verschiedener Tumorentitäten konnten charakteristische Veränderungen an den lymphozytären Subpopulationen nachweisen, die einerseits in direkter Korrelation zum Tumorstadium und der Tumorentität stehen und andererseits prognostische Wertigkeit erlangen konnten. Immunsuppressive Mechanismen, die auf zellulärer Ebene ablaufen, sind mittels Bestimmung eines differenzierten Immunstatus nachweisbar und werden damit einer therapeutischen Intervention zugänglich. Die Effizienz immunmodulatorischer Therapiemaßnahmen kann mithilfe des zellulären Immunstatus überwacht werden und eröffnet die Möglichkeit, die Therapie- maßnahmen patientenindividuell auszurichten.

Schlüsselwörter: Escape-Phänomen, Immunsuppression

Summary

Complex mechanisms at the cellular and humoral level that can be induced and maintained by cancer cells themselves, enable malignant tumours to escape the attention of immunosurveillance. The quantitative cellular composition of the immune cells and their functional status can be determined by means of continuous flow cytometry and fluorescent antibody marking (immune status). Studies of a number of different tumour entities revealed characteristic changes in the lymphocytic subpopulations, which changes correlated directly with tumour stages and tumour entities and also demonstrated prognostic value. Immunosuppressant mechanisms at the cellular level can be detected by determining the differentiated immune status, making them susceptible to therapeutic intervention. The efficacy of immunomodulating therapeutic measures can be monitored based on cellular immune status, making it possible to individualize the therapeutic measures for specific patients.

Key words: escape phenomena, immunosuppression

Resumen

Mecanismos complejos a nivel celular y humoral que pueden ser inducidos y mantenidos por las mismas células cancerígenas permiten que los tumores malignos escapen de la vigilancia inmunológica. La composición celular cuantitativa de la células inmunocompetentes y su estado funcional se pueden registrar mediante la citometría de flujo continuo y anticuerpos marcados con fluorescencia (estado inmune). Estudios en un gran número de entidades tumorales diferentes pudieron demostrar cambios característicos en las subpoblaciones linfocitarias que, por un lado, están en correlación directa al estadio y la entidad tumoral y, por otro lado, podrían adquirir valor de pronóstico. Los mecanismos inmunodepresores que se desarrollan en el plano celular son demostrables mediante la determinación de un estado inmune diferenciado y de esta forma se hacen accesibles a una intervención terapéutica. La eficiencia de medidas terapéuticas inmunostimulantes se puede supervisar con ayuda del estado inmune celular, lo cual abre la posibilidad de dirigir las medidas terapéuticas de forma individual a los pacientes.

Palabras Claves: «escape» fenómeno, inmunodepresión

Einleitung

Die Wechselbeziehungen zwischen Immunsystem und Tumor werden zunehmend besser verstanden, insbesondere auch die immunologischen Escape-Phänomene, also wie sich Tumorzellen einer Immunantwort entziehen können. In den letzten Jahrzehnten konnte eine Vielzahl von humoralen, molekularen und zellulären Mechanismen nachgewiesen werden, wie die Krebszellen einer wirksamen Immunantwort entgehen können. Eine wesentliche Rolle spielen Suppressor-Lymphozyten. Diese Zellen können eine wirksame Immunantwort gegen Krebszellen blockieren. Suppressor-Lymphozyten werden von Krebszellen selektiv stimuliert, um sich so vor einer Immunattacke zu schützen. Dieser Mechanismus wurde in jüngster Zeit näher untersucht.

CD 4+-Lymphozyten

T-Lymphozyten können über ihre Oberflächenmarker in verschiedene funktionelle Untergruppen differenziert werden, die nach einer CD-Nomenklatur (= Cluster of differentiation) klassifiziert werden. Allgemein wurden die CD 4+-Lymphozyten in der Vergangenheit als Helfer-Lymphozyten bezeichnet, die wiederum in Abhängigkeit von der Produktion ihrer Zytokine in TH-1-Lymphozyten und TH-2-Lymphozyten unterschieden wurden. Vereinfacht ausgedrückt stimulieren Erstere die T-Zell-Antwort und Letztere die B-Zell-Antwort.

Regulatorische CD 4+-Lymphozyten

Eine Untergruppe der CD 4+-Lymphozyten, die als regulatorische T-Lymphozyten bezeichnet wird (Treg), hat die Aufgabe, autoimmunologische Erkrankungen zu verhindern, bei denen sich das eigene Immunsystem gegen körpereigene Strukturen richtet. Diese Lymphozyten machen etwa 5 bis 10 % der CD 4+-Lymphozyten im peripheren Blut aus. Die Botensubstanzen Interleukin-10 (IL-10) und Transforming growth factor-beta (TGF- β) stimulieren diese regulatorischen T-Lymphozyten. Treg inhibieren die Proliferation naiver T-Lymphozyten, hemmen die Proliferation naiver CD 4+-Helferlymphozyten, die ihrerseits die Schlüsselzellen für die Aktivierung von Killerzellen des Immunsystems sind und in der Lage sind, naive CD 4+-Helferlymphozyten in regulatorische CD

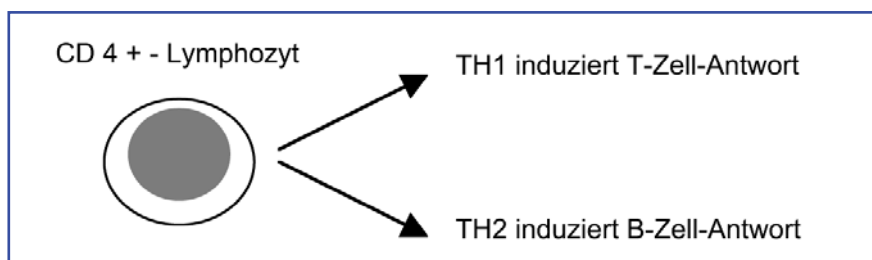


Abb. 1: Unterschiedliche CD 4+-Lymphozyten.

4+-Lymphozyten umzuwandeln (A. O'GARRA ET P. VIERA, 2004).

Tumorzellen induzieren Immunsuppression

Tumorzellen sezernieren u. a. die Botensubstanzen TGF- β , IL 10 und induzieren die Prostaglandin E2-Synthese. Diese Botensubstanzen haben immunsuppressive Eigenschaften und stimulieren die bereits beschriebenen regulatorischen CD 4+-Lym-

phozyten, aber auch CD 8+Suppressor-Lymphozyten, die ebenfalls eine immunsuppressive Funktion ausüben. Als Folge tritt u. a. eine Hemmung der Proliferation der T-Lymphozyten ein und die Killerzellen werden in ihrer Aktivierung gehemmt (vgl. Beispiel Immunstatus).

Diese Suppressor-Lymphozyten rücken im Rahmen immunologischer und komplementärer Therapieansätze zunehmend in den Mittelpunkt des therapeutischen Interesses. Bisher galt es als ein primäres Behandlungsziel,

Zelltyp	%	Normbereich %	Zellzahl/ul	Referenzbereich
Natürliche Killerzellen	3	10 - 19	22	200 -400
aktivierte Natürliche Killerzellen	0	2 - 6	0	20 - 120
CD 4+ - Lymphozyten gesamt	45	38 - 46	324	700 - 1.100
Treg	30	<10	216	70 - 110

Abb. 2: Der Immunstatus einer Patientin mit metastasierendem Ovarialkarzinom zeigt hier eine stark verminderte Anzahl von Natürlichen Killerzellen (3 %) und eine fehlende Aktivierung dieser für die Immunabwehr von Krebszellen wichtigen Abwehrzellen. Gleichzeitig findet sich eine Vermehrung von regulatorischen CD 4+-Lymphozyten (Treg), die hier mit 30 % (Normbereich <10 %) deutlich überrepräsentiert sind und offensichtlich bei der Patientin eine Suppression der Natürlichen Killerzellen bewirkt haben.

Zelltyp	%	Normbereich %	Zellzahl/ul	Referenzbereich
Natürliche Killerzellen	7	10 - 19	102	200 -400
aktivierte Natürliche Killerzellen	3	2 - 6	44	20 - 120
CD 4+ - Lymphozyten gesamt	24	38 - 46	351	700 - 1.100
Treg	7	<10	102	70 - 110

Abb. 3: Der Immunstatus derselben Patientin mit metastasierendem Ovarialkarzinom nach immunmodulatorischen Therapiemaßnahmen zur Abregelung der Suppressor-Lymphozyten zeigt einen deutlichen Anstieg der Natürlichen Killerzellen von 3 % auf 7 % und einen Aktivierungsanstieg von 0 % auf 3 %. Korrespondierend findet sich ein Abfall der Treg in den Normbereich von 30 % auf 7 %.

die Immunantwort beim Krebspatienten mittels unspezifischer Immunstimulanzien zu verbessern. Dem steht beim Krebspatienten oftmals eine stark erhöhte Anzahl von Suppressor-Lymphozyten entgegen, die eine Immunantwort auf immunstimulatorische Maßnahmen nicht nur konterkarieren, sondern ins Gegenteil verkehren können. In solchen Fällen sollten die primären Behandlungsmaßnahmen auf die Abregelung dieser Suppressor-Lymphozyten gerichtet sein. Hierfür stehen differenzierte Behandlungsansätze zur Verfügung (vgl. Teil 2).

Wechselbeziehung zwischen Immunsystem und Tumor

Die Immunabwehr gegen Infektionen und Tumoren stützt sich auf zwei Hauptsäulen: die angeborene und die erworbene Immunität. Zu den Zellen der angeborenen Immunität gehören die Makrophagen und die Dendritischen Zellen, die als Antigen präsentierende Zellen eine Schlüsselrolle einnehmen und als Brückenglied zwischen angeborener und erworbener Immunität wirken. Ebenso zählen die NK-Zellen, Neutrophilen, Eosinophilen und T-Zellen (gamma-delta)

zum angeborenen Immunsystem. B-Lymphozyten, CD 4(+) und CD 8(+) T-Lymphozyten werden dem erworbenen Immunsystem zugeordnet. Die Interaktionen zwischen diesen Systemen und Zellen erfolgen über die Immunzellen selbst und bestimmten Botensubstanzen, die Zytokine.

Die T-Zellen-vermittelte Immunantwort gegen Tumore wird durch zytotoxische T-Lymphozyten (CD 8+ CTL) ausgeübt. Die Erkennung und Elimination von Tumorzellen durch T-Lymphozyten erfolgt über die MHC-gebundene Prozessierung der Antigene durch die Tumorzelle selbst oder durch professionelle Antigen präsentierende Zellen im Kontext mit kostimulatorischen membran-gebundenen Molekülen.

Eine wesentliche Rolle bei der Immunantwort gegen Tumore nehmen auch die natürlichen Killerzellen (NK-Lymphozyten) und die polymorphkernigen Leukozyten wie die Eosinophilen ein. Natürliche Killerzellen (NK) lysieren im Gegensatz zu den T-Lymphozyten auch dann Tumorzellen, wenn sie kein MHC exprimieren (MHC unrestricted). NK-Lymphozyten können aber auch Tumorzellen attackieren, die die Antigene über den MHC-Komplex präsentieren (MHC-restricted).

Veränderungen der lymphozytären Subpopulationen korrelieren bei vielen Tumoren mit der Prognose und dienen als Kontrolle der Therapieeffizienz bei verschiedenen immunmodulatorischen, resp. immunstimulatorischen Therapien. Das Immunmonitoring der immunologischen Parameter unter immunmodulatorischen Therapien dient einerseits der Verlaufs- und Effizienzkontrolle, erscheint aber andererseits auch aus einem anderen Aspekt sinnvoll: Biological response modifiers haben nicht nur immunstimulatorische Eigenschaften, sondern können, in Abhängigkeit von der immunologischen Ausgangslage, eine Immunsuppression auslösen.

Die Wechselbeziehungen zwi-

schen Immunsystem und Tumor sind äußerst komplex und beinhalten auch die Escape-Phänomene. Das zelluläre Substrat der Immunantwort gegen Tumore sind die Lymphozyten, insbesondere die T-Lymphozyten oder auch T-Zellen genannt und die natürlichen Killerzellen. Mithilfe der Durchflusszytometrie und Fluoreszenz markierter Antikörper ist die Phänotypisierung dieser Immunzellen im peripheren Blut anhand einer Blutprobe technisch leicht durchführbar und liefert reproduzierbare Daten. Das Monitoring dieser Immunzellen ist bei verschiedenen onkologischen und anderen chronischen Krankheitsbildern von klinischer Relevanz. Beim Krebspatienten finden sich typische Veränderungen im zellulären Immunsystem, die klinische Wertigkeit im Hinblick auf die Prognose und die Therapie erlangt haben.

CD 8+-Lymphozyten

Die Gruppe der CD 8(+)-Lymphozyten stellt eine heterogene lymphozytäre Zellpopulation dar. So finden sich in dieser Gruppe Effektorzellen (zytotoxische T-Lymphozyten, Lymphokin-aktivierte Killerzellen – LAK-Zellen), Gedächtniszellen und Suppressorzellen. Mit verschiedenen Oberflächenmarkern wurden diese Subgruppen phänotypisiert und funktional differenziert.

CD 8+-Suppressor-Lymphozyten

Allgemein ausgedrückt, hemmen Suppressor-Lymphozyten die zelluläre Immunreaktion. IL-2-abhängige Suppressorlymphozyten, die die patienteneigene Lymphozytenproliferation auf Alloantigene oder Phytohämagglutinin (PHA) hemmen, wurden von KOYAMA (1985) bei Patienten mit metastasierendem Magenkarzinom im peripheren Blut phänotypi-

siert (S. KOYAMA et al., 1985). EBIHARA et al. (1991) konnten ebenfalls bei Patienten mit Magenkarzinomen Lymphokin-aktivierte Suppressorlymphozyten nachweisen.

Suppressorlymphozyten sind in der Lage, über die Prostaglandinsynthese die zelluläre Immunantwort zu hemmen. Suppressorlymphozyten hemmen via IL-6- und IFN- γ -Freisetzung die Proliferation der T-Lymphozyten.

Suppressor-Lymphozyten hemmen die Proliferation von CD 4(+)-Helfer-Lymphozyten und inhibieren direkt via CD 40-Blockade die Fähigkeit, von Antigen präsentierenden Zellen (APC) CD 4(+)-T-Helfer-Lymphozyten zu aktivieren.

Eine Untersuchung an Herztransplantierten konnte nachweisen, dass Alloantigen-spezifische Suppressorzellen die Hochregulation von Immunoglobulin-like-transcript-Rezeptoren (ILT 3 und ILT 4) induzieren, die auf den Antigen präsentierenden Zellen (APCs), wie den Dendritischen Zellen und den Monozyten exprimiert werden. Diese APCs waren dann nicht mehr in der Lage, CD 4+-T-Helfer-Lymphozyten zu stimulieren, die für eine zelluläre Immunantwort notwendig sind.

KOYAMA und FUKAO (1994) konnten bei Magenkarzinompatienten zwei lymphozytäre Subpopulationen nachweisen, die direkt die Zytolyse von Lymphokin-aktivierten Killerzellen hemmten. Ein möglicher Einfluss von Suppressormakrophagen (HLA-DR+ LeuM3+) und CD 4(+)-Lymphozyten konnte ausgeschlossen werden.

Die suppressive Eigenschaft von Suppressorlymphozyten wurde in der autologen gemischten Lymphozytenreaktion durch Anti-IFN-gamma-Antikörper komplett aufgehoben, jedoch nicht durch Anti-IL-4-, Anti-IL-10- oder TGF- β -Antikörper.

Ein weiterer Zelltyp mit Suppressionsfunktion (CD 8^{hi}+ CD 57+) konnte bei Patienten nachgewiesen werden, deren Immunsystem durch Virusinfektionen (HIV, CMV) oder

allogene Transplantate chronisch stimuliert wurde.

Escape-Mechanismen

In den letzten Jahrzehnten konnte eine Vielzahl von humoralen, molekularen und zellulären Mechanismen nachgewiesen werden, wie sich Krebszellen einer wirksamen Immunantwort entziehen können. Wegen der diagnostischen und möglichen therapeutischen Relevanz werden exemplarisch einige dieser Escape-Mechanismen kurz dargestellt.

Für eine suffiziente Immunreaktion benötigen T-Zellen die Antigenexpression und weitere kostimulatorische Signale. Bei den meisten Tumoren mangelt es aber vielfach an dieser Antigenexpression, resp. sind diese zu schwach ausgebildet, um eine Immunreaktion auszulösen.

Myeloide Suppressorzellen können eine T-Zellantwort inhibieren (A. MAZZONI et al., 2002; M. R. YOUNG et D. M. LATHERS, 1999). Es findet sich bei Krebspatienten ein Ungleichgewicht in der TH1/TH2-Verteilung zugunsten der TH 2-Lymphozyten (M.

SATO et al., 1998, S. GOTO et al., 1999).

Tumoren können lösliche Faktoren produzieren, wie VEGF, das die Reifung von Antigen präsentierenden Zellen, den Dendritischen Zellen, blockiert (J. E. CARBONE, 2002). Unreife Dendritische Zellen (iDCs) sind in der Lage, das CTL-assoziierte Molekül (CTLA-4) auf T-Lymphozyten hoch zu regeln, das die T-Zell-Proliferation und IL-2-Produktion inhibiert (H. JONULEIT et al., 2000).

Dendritische Zellen nehmen bei der Immunabwehr von Tumoren als Antigen präsentierende Zellen eine Schlüsselrolle ein. M. AALAMIAN et al. konnten nachweisen, dass Prostatakrebszellen die Konversion von Monozyten in Dendritische Zellen (DC) hemmen und ihre funktionale Aktivität inhibieren (M. AALAMIAN et al., 2001) Auch B. ALMAND et al. fanden eine dramatische Reduktion und einen Funktionsverlust der Dendritischen Zellen bei Krebspatienten. Dies führt zur Akkumulation von unreifen Dendritischen Zellen (ImC) im peripheren Blut, die die Fähigkeit besitzen, die antigenspezifische T-Zellantwort zu hemmen (B. ALMAND et al., 2001).

Experimentell konnte nachgewiesen werden, dass eine spezifische Immunantwort, die durch cytotoxi-

sche CD 8(+)-Lymphozyten vermittelt ist, durch andere, ebenfalls CD 8(+)-Lymphozyten, sog. Interleukin-10 produzierende CD 8 Tr (+) regulatorische Suppressor-Lymphozyten gehemmt werden kann. Diese CD 8 Tr-Lymphozyten werden via Dendritischer Zellen (Typ 2) antigenspezifisch stimuliert. Im Experiment konnte eine IL-10 produzierende CD 8 (+) Tr die Proliferation von 10 bis 20 naiven CD 8(+)-Lymphozyten hemmen und zeigte die immunsuppressive Potenz dieser Lymphozyten an (M. GILLIET et Y.-J. LIU, 2002).

Bei Patienten mit fortgeschrittenen malignen Tumoren zeigten die NK-Zellen eine mangelnde Proliferation im Vergleich zu gesunden Kontrollen unter dem Einfluss von Interleukin-2 (P. SEDLMAYER, 1991). Die Expression des Transforming growth factor beta 1 der Tumorzellen (TGF-beta 1 mRNA) korrelierte mit einem Abfall der Aktivität der NK-Zellen (S. J. YOON, 1998).

Das Serum von Patienten mit fortgeschrittenem Magenkarzinom induzierte in einer Untersuchung von TOGE et al. Suppressorzellen, die im autologen System die Proliferation der Lymphozyten hemmten (T. TOGE et al., 1983).

Erhöhte Prostaglandin-E2- und Histamin-Spiegel üben bei Krebspatienten inhibitorische Effekte auf

das zelluläre Immunsystem aus (P. UOTILA, 1996). Die Proliferation von T-Lymphozyten wird gehemmt sowie die Freisetzung des IL-2 der CD 4(+)-Lymphozyten (S. G. HARRIS et al., 2002).

Ein weiteres Escape-Phänomen wird durch das extrazelluläre saure Milieu im Tumorgebiet ausgelöst und unterhalten. FISCHER et al. fanden einen direkt mit dem pH korrelierten Abfall der zytolytischen Aktivität von Killerzellen. Bei einem pH von 5.8 war die zytolytische Funktion der MHC-unrestringierten Effektorzellen nahezu vollständig erloschen (B. FISCHER et al., 2000).

Literatur beim Verfasser



Dr. med. H.-J. Bach
Siemensstraße 35
42697 Solingen