

Induktion zytotoxischer T-Lymphozyten mit Hilfe von aus peripherem Blut erzeugten dendritischen Zellen zur Therapie des malignen Melanoms

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorgrades
des Fachbereichs Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Selma Alijagic

Berlin 2003

Hiermit versichere ich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt und nur die in der Arbeit genannten Hilfsmittel verwendet habe.

1. Gutachten: Prof. Dr. B. Wittig
2. Gutachten: Prof. Dr. E. Riedel

Datum der Disputation: 16.10.2003

Inhalt

1. Zusammenfassung	3
2. Einleitung	5
2.1 Dendritische Zellen	5
2.1.1 Eigenschaften und Entwicklung	5
2.1.2 Immunologische Funktion	7
2.2 Das maligne Melanom	10
2.2.1 Melanom-assoziierte Tumorantigene	11
2.2.2 Immuntherapie	12
3. Material und Methoden	15
3.1 Reagentien und Lösungen	15
3.2 Zellkultur	15
3.3 Zelllinien	16
3.4 Isolierung mononukleärer Zellen aus peripherem Blut	16
3.5 Gewinnung dendritischer Zellen aus Monozyten	17
3.6 Einfluß von TNF- α auf dendritische Zellen	17
3.7 Isolierung und Anreicherung von Lymphozyten	18
3.8 T-Zell Kultur	19
3.9 Peptide	20
3.10 Lymphozytenstimulationstest	20
3.11 Antigenpräsentationstest	21
3.12 Durchflußzytometrie	21
3.12.1 Experimentelle Durchführung	22
3.12.2 Antikörper	23
3.13 Plasmid-DNA	24
3.14 Transfektion von Zellen	24
3.14.1 Histochemische Färbung der Zellen	25
3.14.2 Bestimmung der Enzymaktivität	26
3.15 Induktion und Bestimmung der Zytokinproduktion	27
3.16 Reverse Transkription-Polymerasekettenreaktion	27

3.17	Induktion zytotoxischer T-Lymphozyten in vitro	30
3.17.1	Lactat-Dehydrogenase-Test (LDH)	31
3.18	Immunisierung von Melanompatienten	32
3.18.1	Klinisches Protokoll	32
3.18.2	Auswertung der klinischen Studien	32
3.18.3	Präparation der dendritischen Zellen	33
3.18.4	Hauttests	34
3.18.5	Herstellung des Tumorlysats	35
4.	Ergebnisse	37
4.1	Gewinnung dendritischer Zellen	37
4.2	Immunstimulatorische Eigenschaften der DC	41
4.3	Transfektion dendritischer Zellen	43
4.4	Stimulation von CTL durch transfizierte DC	46
4.5	Zytokinexpression in DC	48
4.6	Immunisierungsstudien an Melanompatienten	50
5.	Diskussion	55
5.1	Eigenschaften dendritischer Zellen	56
5.2	Tumorimmunisierung	60
6.	Literatur	65
	Abkürzungen	77
	Danksagung	79
	Lebenslauf	81
	Publikationen	82