

# 1 Einleitung

## 1.1 Dendritische Zellen

### 1.1.1 Eigenschaften und Entwicklung

Dendritische Zellen (DC) stellen eine heterogene Leukozytenpopulation dar. Es konnte eine große Zahl von Untergruppen identifiziert werden, z.B. Langerhanszellen (in der Haut), interstitielle DC (in Herz, Nieren, Darm, Lunge), interdigitierende DC, folliculäre DC, lymphatische DC und „Schleierzellen“ („veiled cells“) aus Blut und Lymphknoten.

Gereifte dendritische Zellen zeigen eine typische verzweigte Morphologie, sie treten ausschließlich in den T-Zell-Bereichen der lymphatischen Gewebe auf. Die Vorläufer dieser Zellen kommen in der Peripherie mit Antigenen in Kontakt und wandern dann zu den lymphatischen Geweben, wo sie die aufgenommenen Antigene den T-Zellen präsentieren und diese stimulieren. Daher bezeichnet man DC als professionelle antigenpräsentierende Zellen (APC). DC spielen eine entscheidende Rolle bei der Initiierung der T-Zellantwort in vivo und sind für die Sensitivierung MHC-restringenter T-Zellen, die Entwicklung der T-Zell abhängigen Antikörperproduktion sowie für die Induktion der immunologischen Toleranz (Steinman, 1991, Stingl und Bergstresser, 1995) verantwortlich.

DC entwickeln sich im Knochenmark aus CD34<sup>+</sup> pluripotenten hämatopoetischen Vorläuferzellen und wandern als unreife Zellen in verschiedene Gewebe wie z.B. Haut und Schleimhaut aus (Bernhard et al., 1995; Huang et al., 1994; Katz et al., 1979). Unreife DC unterscheiden sich von ausgereiften DC in zwei wesentlichen Punkten: Zum einen können sie Antigene aufnehmen, zum anderen besitzen sie keine costimulierende Aktivität. Diese Zellen können durch Kontakt mit einem Antigen dazu veranlasst werden, zu den lymphatischen Organen zu wandern, wo sie zu reifen DC werden, welche keine Antigene mehr aufnehmen, dafür jedoch eine starke costimulierende Aktivität besitzen. Die Rolle der DC im Rahmen der Immunantwort besteht also darin, Antigene von einem Infektionsherd zu den lymphatischen Geweben zu transportieren und dort naive T-Lymphozyten zu aktivieren.

Um wirksam zu sein, muß eine Antigen-präsentierende-Zelle zwei Anforderungen erfüllen. Zum einen muß sie Fremdanigene effizient zu immunogenen Peptid-MHC-Komplexen verarbeiten, zum anderen muß sie ausreichende Mengen der für die Bindung an T-Zellen erforderlichen Adhäsionsmolekülen exprimieren.

Diesen Forderungen entsprechen prinzipiell zahlreiche MHC-II-positive Zellen. Alle können Fremdartigene bereits sensibilisierten T-Lymphozyten präsentieren. Wenn es aber darum geht, ruhende, nicht sensibilisierte, „naive“ T-Zellen zu aktivieren, d. h. eine primäre Immunantwort auf ein bislang dem Organismus unbekanntes Antigen einzuleiten, ist hierzu nur eine Art von APC geeignet. Dies ist die von R. Steinman entdeckte und charakterisierte „dendritische Zelle“ (Steinman, 1991).

Die Aktivierung von T-Zellen durch APC, hängt im Wesentlichen von drei Signalen ab:

- Antigenpräsentation relevanter Peptide in Assoziation mit dem MHC-Molekül
- Costimulatorische Signale
- Adhäsionsignale für die T-Zell-Clusterbildung

Unreife DC lassen sich auch aus peripheren mononukleären Zellen generieren. Eine Identität dieser Zellen mit DC aus verschiedenen anderen Geweben konnte von Romani et al. (1994) nachgewiesen werden (Abb. 1).

Im Gegensatz zu Monozyten, welche auf ihrer Zelloberfläche nur wenige MHC-Klasse-II-Moleküle (Klareskog et al., 1997) aufweisen, exprimieren dendritische Zel-

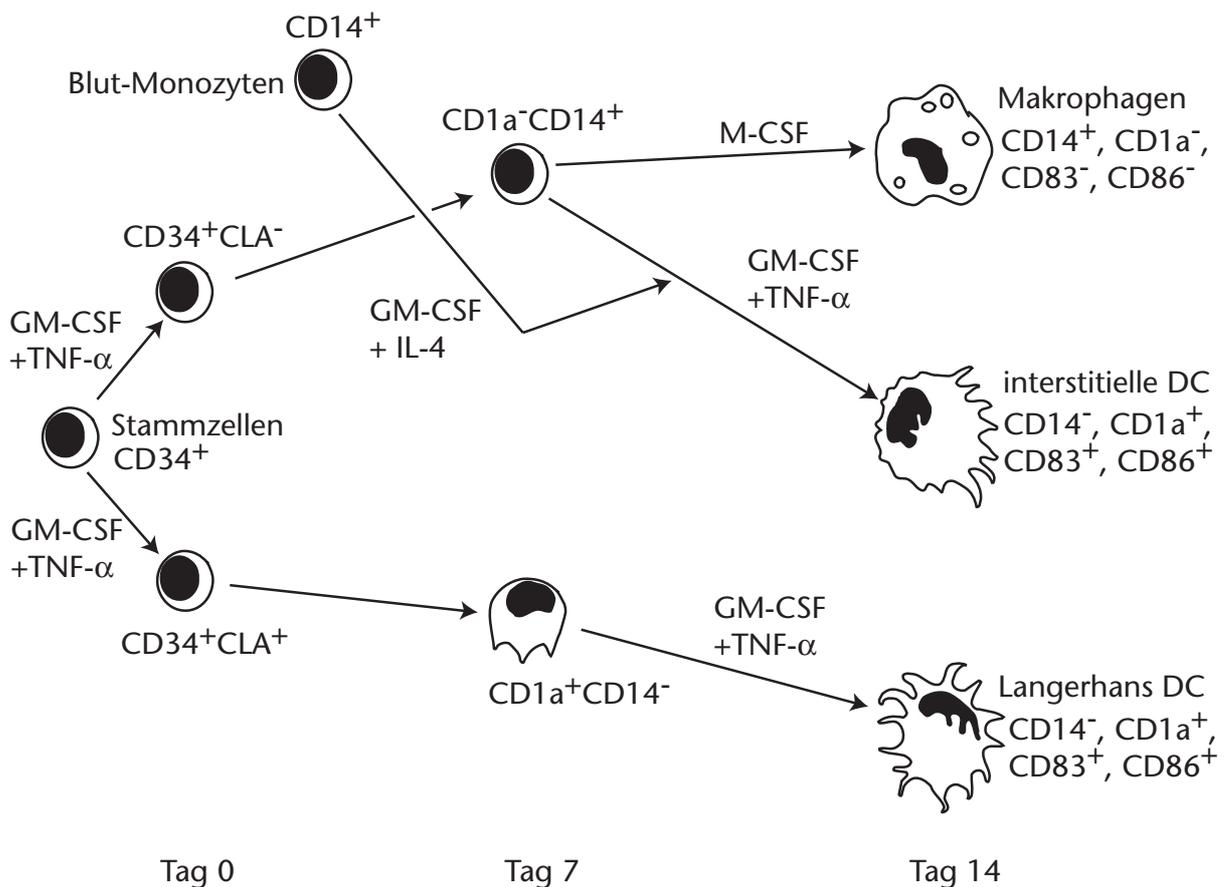


Abb. 1 Entwicklung unterschiedlicher Zelltypen aus CD34<sup>+</sup> Stammzellen. Welcher Zelltyp entsteht hängt von den einwirkenden Zytokinen ab.

len konstitutiv große Mengen an MHC-Klasse-II-Molekülen wie z. B. HLA-DR, HLA-DP und HLA-DQ (Klareskog et al., 1977). An der Stimulation der T-Zellen sind mehrere Oberflächenproteine beteiligt. Die wichtigsten sind B7-1 (CD80) und B7-2 (CD86) (June et al., 1994), welche von DC konstitutiv auf der Zelloberfläche exprimiert werden (Nestle et al., 1993; Symington et al., 1993). Eine Antigenpräsentation (z.B. von Tumorantigenen) in Abwesenheit costimulatorischer Signale kann dazu führen, daß die T-Zellen unfähig sind auf diese zu reagieren (Chen et al., 1993).

DC exprimieren verschiedene Arten von Adhäsionsmolekülen wie ICAM-I (CD54), LFA-3 (CD58) und  $\beta$ 1-Integrin (CD29), welche für ein effektives T-Zell-Clustering von Bedeutung sind (Freudenthal und Steinman, 1990). Weiter exprimieren dendritische Zellen CD40, welches an den CD40-Liganden auf der Oberfläche der T-Zellen bindet. Hierdurch wird die Zytokin-Produktion der DC stimuliert. CD11a, CD11b und CD11c spielen eine wichtige Rolle für die Lymphocyten-Aktivierung (Agger et al., 1990; Szabolcs et al., 1995). Auch diese Adhäsionsmoleküle werden von DC exprimiert.

Die für T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen, Monozyten und natürlichen Killerzellen (NK) typischen Zellmarker, sind auf DC nicht nachgewiesen worden (Freudenthal und Steinman, 1990).

## 1.1.2 Immunologische Funktion

Dendritische Zellen entstehen im Knochenmark und gelangen als Vorläuferzellen mit dem Blut in fast alle lymphatischen und nicht lymphatischen Organe. Gewebeständige DC werden als unreife, immature, DC bezeichnet.

In der Haut und Schleimhaut üben sie eine Wächter-Funktion für eingedrungene Pathogene aus (Steinman, 1991; Banchereau and Steinman, 1998).

In Fall einer Infektion oder Entzündung in der Peripherie werden unreife DC auf der Stelle der Entzündung rekrutiert. Sie nehmen Pathogene auf und wandern aus den Gewebe in afferente Lymphe zu lokalen Lymphknoten.

Unreife DC exprimieren Fc $\gamma$ R. Daher spielt die aktive Phagozytose bei diesen Zellen eine Rolle (Steinman, 1991). Die Antigenaufnahme erfolgt auch auf zwei alternativen Wegen. Zum einen nehmen DC konstitutiv große Flüssigkeitsmengen durch Makropinozytose auf, zum anderen findet eine Antigenaufnahme über den Mannose-rezeptor (Sallusto et al., 1995) statt.

Bestimmte Krankheitserreger können sich in unterschiedlichen Kompartimenten innerhalb der Zelle vermehren. Viren und einige Bakterien replizieren sich im Cytosol, während einige pathogene Bakterien und eukaryotische Parasiten im vesikulären System, einschließlich der Endosomen und der Lysosomen wachsen. Um eine angemessene Antwort auf infektiöse Mikroorganismen einzuleiten, erkennen T-Zel-

len nicht nur die Anwesenheit von fremdem Material im Cytosol und im vesikulären System sondern auch dessen Lokalisierung. Dies geschieht dadurch, daß zwei Klassen von MHC-Molekülen die Peptide aus den verschiedenen zellulären Kompartimenten präsentieren. MHC-Klasse-I-Moleküle transportieren Peptide aus dem Cytosol an die Zelloberfläche, wo der Peptid-MHC-Komplex von den CD8<sup>+</sup> T-Zellen erkannt wird. Bei Peptiden aus dem vesikulären System übernehmen diese Rolle die MHC-Klasse-II-Moleküle (Morrison et al., 1986 a, b). Die entsprechenden Komplexe werden von CD4<sup>+</sup> T-Zellen erkannt. Der Abbau von Proteinen zu Peptidfragmenten, welche an MHC-Moleküle gebunden werden, wird als Antigenprozessierung bezeichnet. Die Präsentation eines an ein MHC-Molekül gebundenen Peptidfragments auf der Zelloberfläche wird Antigenpräsentation genannt.

DC nehmen Proteinantigene auf und bauen sie enzymatisch in spezialisierten Zellorganellen, wie den Endosomen oder den Lysosomen, zu 8 bis 20 Aminosäuren langen Peptidfragmenten ab. Diese Fragmente binden in den mit MHC-Klasse-II-Proteinen angereicherten Kompartimenten (MIIC) an neusynthetisierte MHC-Klasse-II-Proteine. Charakteristisch für kultivierte DC ist das Vorhandensein von großen intrazellulären Kompartimenten, welche MHC-Klasse-II-Moleküle, Kathepsin D und Lysosomen-assoziiertes Membran-Protein-1 enthalten (Sallusto et al., 1995).

Unreife DC aus nicht-lymphatischen Geweben nehmen Antigene auf, prozessieren diese und wandern zu den Lymphknoten (Steinman, 1991). Verschiedene in vitro und in vivo Studien haben gezeigt, daß DC die einzigen Zellen des Immunsystems sind, welche dieses Verhalten aufweisen (Austyn et al., 1988; Larsen et al., 1990 a, b). Es wird angenommen, daß die Wanderung von DC hauptsächlich durch Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) reguliert wird (Cumberbatch und Kimber, 1995). TNF- $\alpha$  spielt auch für die effiziente Antigenpräsentation durch DC eine wichtige Rolle (Sallusto et al., 1995).

Die Migrationsfähigkeit der DC beruht auf einer veränderten Expression verschiedener Chemokinrezeptoren. Rekrutierung und Migration unreifer DC in die Lymphknoten werden durch diese veränderte Rezeptorexpression strikt reguliert (Greaves et al., 1997; Dieu et al., 1998; Sallusto et al., 1998; Delgado et al., 1998; Sozani et al., 1998; Yanagihara et al., 1998).

Auf unreifen DC wurden folgende Rezeptoren für inflammatorische Chemokine nachgewiesen: CCR1, CCR2, CCR5, CCR6 und CXCR1 (Sallusto et al., 1999, Yanagihara et al., 1998). Eine Bindung von Chemokinen an diese Rezeptoren führt die unreifen DC zu einem Entzündungsherd. Hier wird durch Aufnahme und Prozessierung von Antigenen eine Reifung der DC induziert. Während der Reifung wird die Expression der Rezeptoren für inflammatorische Chemokine abgeschaltet und die Zellen exprimieren stattdessen Rezeptoren für konstitutive Chemokine z. B. CXCR4 und CCR7. Mit Hilfe dieser Rezeptoren wandern die reifenden DC zu den T-Zell Bereichen der Lymphknoten, wo die Konzentration der CCR7 Liganden, SLC und ELC,

am höchsten ist (Gunn et al., 1998; Willmann et al., 1998; Ngo et al., 1998; Adema et al., 1997).

Während der Reifung produzieren DC verschiedene konstitutive Chemokine wie DC-CK1/PARC (Adema et al., 1997; Hieshima et al., 1997), MDC (Godiska et al., 1997; Schaniel et al., 1998), TARC (Imai et al., 1997, 1998) und ELC (Sallusto et al., 1998; Ngo et al., 1998) sowie inflammatorische Chemokine wie MIP-3 $\alpha$  (Power et al., 1997), MIP-1 $\alpha$  und MCP-1 (Sallusto et al., 1998). Diese Chemokine können auf autokrinem oder parakrinem Wege unreife DC anlocken, sowie deren Reifung induzieren.

Für die CCR7 abhängige Wanderung dendritischer Zellen aus der Peripherie in die Lymphknoten ist Leukotrien C4 (LTC4) unbedingt erforderlich (Robbiani et al., 2000), da es die DC für Chemokine wie CCL19 sensibilisiert. LTC4 kann von verschiedenen Zelltypen wie z.B. Mastzellen, eosinophilen oder basophilen Granulozyten oder auch von DC produziert werden (Spanbroek et al., 1998, 2000). Für die Migration der DC in die Lymphknoten sind ferner auch funktionsfähige Transportproteine für LTC4 notwendig. Hierbei handelt es sich um MDR-1 sowie um MRP1 (Robbiani et al., 2000). Die LTC4 abhängige Migration der DC wird interessanterweise durch IL-4 gehemmt (Serhan et al., 1996).

Reife DC haben die Fähigkeit Fremddantigene zu prozessieren weitgehend verloren. Gleichzeitig können sie aber ruhende, naive T-Lymphozyten äußerst effizient aktivieren. Aktivierte T-Lymphozyten reagieren sehr schnell auf antigene Stimuli.

Die Expression von Adhäsionsmolekülen wie CD11a (LFA-1), CD29 ( $\beta$ 1-Integrin), CD54 (ICAM-1), CD58 (LFA-3), VCAM-1, VLA-1,4,5,6 (CD49a, d, e, f) und CD44, ist in reifen DC wesentlich erhöht (Agger et al., 1990). Wahrscheinlich erleichtern die von den DC exprimierten Adhäsionsmoleküle den T-Lymphozyten die Erkennung der Komplexe zwischen den Peptidfragmenten und den MHC-Klasse-I- bzw. Klasse-II-Molekülen. Die Wirksamkeit der T-Zell-Aktivierung durch DC hängt von der Expression der Adhäsions- und anderer costimulatorischer Proteine und von der erhöhten Expression der MHC-Klasse-II-Moleküle ab (Guery und Adorini, 1995). Die DC stimulieren T-Lymphozyten wesentlich effizienter als Makrophagen oder B-Zellen (Cassell et al., 1994; Guery und Adorini, 1995). Deshalb wird die Annahme, daß DC die wichtigsten APC, für die Entwicklung der Immunantwort sind, allgemein akzeptiert (Steinman, 1991; Thomas und Lipsky, 1996).

Die Expression von Adhäsionsmolekülen ermöglicht den DC die Clusterbildung mit T-Lymphozyten (Flechner et al., 1988). Damit ein T-Lymphozyt aktiviert wird, muß er mit einer DC interagieren. Der spezifische T-Zellrezeptor (TCR) bindet an den Peptid-MHC-Komplex auf der DC. Diese DC-T-Zell-Adhäsion wird durch weitere Rezeptor-Liganden-Paare verstärkt: MHC-CD4/CD8, CD54(ICAM-1)-CD11a (LFA-1), CD58 (LFA-3)-CD2. Zusätzlich ist ein costimulatorisches Signal notwendig. Dieses Signal wird von der DC durch die Wechselwirkung zwischen B7/BB1 und CD28

an die T-Lymphozyten gegeben. Neben der Stimulation unreifer T-Zellen, können DC auch noch andere T-Zell-Antworten induzieren. Die Art der Antwort hängt von der Art des Reifungssignals ab, welche von den DC empfangen wird. Eine Aktivierung der DC durch z.B. LPS, bakterielle CpG-DNA, virale Doppelstrang-RNA oder T-Zell vermittelte Signale (über CD40:CD40L) führt durch Freisetzung von IL-12 zu einer Induktion einer Th1-Antwort mit IFN- $\gamma$  Freisetzung durch entsprechende T-Zellen.

Moleküle wie z. B. IL-10, TGF- $\beta$ , PGE-2 und Kortikosteroide hemmen die Reifung der DC und damit die Produktion von IL-12 und induzieren so eine Th2-Antwort bzw. eine regulatorische T-Zellantwort (Liu, 2001).

DC dienen nicht nur zur Aktivierung einer Immunantwort, sondern können auch eine periphere Selbsttoleranz bewirken. Dies geschieht durch Reifung unreifer T-Zellen zu IL-10 produzierenden Suppressor-Zellen (Jonuleit et al., 2000; Dhodapkar et al., 2001).

Aufgrund ihrer Eigenschaften sind DC im Prinzip zur Induktion einer primären Immunantwort bzw. zur Induktion von Antitumorimmunität geeignet. Daher liegt es nahe DC zur Impfung gegen Tumore zu verwenden, wobei DC als natürliches Adjuvans wirken. Die Gewinnung einer ausreichenden Zahl von DC für die Immuntherapie wurde allerdings erst möglich nachdem neue Methoden zur Erzeugung und Vermehrung von DC-Vorläufern aus humanem Nabelschnurblut, Knochenmark oder peripherem Blut entwickelt wurden (Caux et al., 1992; Sallusto et al., 1994; Romani et al., 1994). Daher können DC nun für die Immuntherapie von Tumorerkrankungen, wie z: B. das maligne Melanom, verwendet werden.

## 1.2 Das maligne Melanom

Ein maligner Tumor ist eine Zellpopulation, die den normalen Kontrollmechanismen des Organismus entkommen ist. Ihr ungehemmtes Wachstum führt letztendlich zum Tode des Patienten. Tumorprogression ist ähnlich wie die Karzinogenese durch genetische Instabilität der Zellen und durch eine Selektion von Mutationen gekennzeichnet. Die Häufigkeit dieser Mutationen liegt in malignen Zellen etwa zehnmal höher als in normalen Zellen (Seshardi et al., 1987; Yarbo, 1992). Die Selektion derartiger Mutanten scheint die Voraussetzung für malignes Wachstum zu sein (Nowel, 1989). Die Mutationsrate erhöht sich während der Tumorprogression und des Metastasierungsprozesses noch weiter (Cifone und Fidler, 1981).

Das maligne Melanom (Abb. 2) ist ein bösartiger Tumor, der seinen Ausgang von den pigmentbildenden Melanozyten nimmt. Aufgrund seines Wachstumsmusters und seiner ausgeprägten Therapieresistenz bei Vorliegen von Metastasen ist das ma-



Abb. 2 *Typische Läsion beim malignen Melanom*

lignen Melanom der bedeutendste Tumor in der dermatologischen Onkologie.

Die Metastasierung des malignen Melanoms erfolgt entweder lymphogen oder hämatogen. Mit eingetretener Disseminierung der malignen Erkrankung sinkt die Überlebenserwartung dramatisch, insbesondere bei Fernmetastasierung (Ahman et al., 1989). Herkömmliche Therapiestrategien einschließlich Chemotherapien führen oft nicht zu den erwünschten Ergebnissen (Garbe, 1993).

Die Therapie eines primären Melanoms besteht in der Exzision. Hierbei wird auch augenscheinlich gesundes

Gewebe entfernt, um sicherzustellen, daß der Tumor vollständig erfaßt wird. Die mittlere Überlebenszeit von Patienten mit Fernmetastasen beträgt hingegen im Durchschnitt sechs Monate (Ahmann, 1989). Therapeutisch stehen operative, radiologische, chemotherapeutische und immunologische Verfahren sowie Kombinationen dieser Methoden zur Verfügung, welche aber häufig nicht zum Erfolg führen. Das Auftreten einer Reihe verschiedener immunologischer Phänomene, wie z. B. spontane Tumorregressionen oder spontane Rückbildung von Metastasen, haben das Melanom zum vorrangigen Kandidaten zur Erprobung immuntherapeutischer Therapien gemacht (Parkinson et al., 1992). Neben Versuchen zur unspezifischen Stimulation des Immunsystems mittels Bacille Calmette Guerin (BCG), Mistelextrakten, Interferonen oder Interleukin-2, die allesamt ohne therapeutischen Erfolg waren, wurden in den letzten Jahren verschiedene hochspezifische zytotoxische T-Lymphozyten (CTL) aus dem peripheren Blut von Melanompatienten isoliert. Diese waren in der Lage gezielt autologe Melanomzellen zu töten (Boon et al., 1994a; Houghton, 1994). Aufgrund von immunologischen und biochemisch-molekularen Analysen ergab sich, daß diese CTL definierte Peptide in Verbindung mit bestimmten MHC-Klasse-I-Molekülen erkannten. Durch Peptidanalyse konnten verschiedene melanom-spezifische Moleküle identifiziert werden, (Houghton, 1994). Die meisten Melanomantigene (MAGE-1, MAGE-3, gp75, Tyrosinase, MART-1/Melan A) scheinen intrazellulär in Melanozyten exprimiert zu werden (Boon et al., 1994b; Houghton, 1994).

### 1.2.1 Melanom-assoziierte Tumorantigene

#### Die MAGE Genfamilie

Das Gen für das MAGE-1 Antigen ist beim Menschen auf dem X Chromosom lokalisiert (Van der Bruggen et al., 1994a). Die zytotoxischen T-Lymphocyten mancher

Melanompatienten erkennen das MAGE-1 Peptid zusammen mit HLA-A1 (Traversari et al., 1992) und mit HLA-Cw16 (Van der Bruggen et al., 1994a) auf der Oberfläche von Tumorzellen.

Die genaue Funktion des MAGE-1-Proteins ist derzeit noch nicht bekannt. MAGE-1 gehört zu einer Familie eng verwandter Gene. Die Gene MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE-4, MAGE-6 und MAGE-12 werden in verschiedenen Mengenverhältnissen auf Tumoren unterschiedlicher Herkunft exprimiert (z.B. Brustkrebs, Lungenkrebs, Neuroblastom und Glioblastom) (Zakut et al., 1993; Van der Bruggen et al., 1994b; Gaugler et al., 1994; Brasseur et al., 1992; De Smet et al., 1994; Patard et al., 1995; Rimoldi et al., 1993; Chambost et al., 1993).

Das MAGE-3 Antigen wird von zytotoxischen T-Lymphozyten im Kontext mit HLA-A1 (Gaugler et al., 1994) und mit HLA-A2 (Karlsson et al., 1994) erkannt.

Antigene der MAGE-Familie werden bei gesunden Erwachsenen in den Hoden oder in der Plazenta exprimiert. Wahrscheinlich handelt es sich um Antigene früher Entwicklungsstadien, welche nach einer Transformation wieder exprimiert werden. Nur bei einer Minderheit von Melanompatienten findet man T-Zellen, die mit Antigenen der MAGE-Familie reagieren. Anscheinend sind in den meisten Fällen diese Antigene entweder nicht exprimiert oder nicht immunogen. Eine ähnliche Gewebsverteilung wie die MAGE-Familie zeigen auch die vor kurzer Zeit neu entdeckte Melanom-assoziierte Antigene, BAGE und GAGE (Boel et al., 1995; Boon et al., 1995).

### **Differenzierungsantigene**

Die häufigsten Antigene des malignen Melanoms sind Fragmente des Enzyms Tyrosinase (Brichard et al., 1993) sowie des Tyrosinase-verwandten-Proteins gp75 (tyrosinase-related-protein, TRP-1) (Wang et al., 1995), Tyrosinase-verwandtes-Protein-2 (tyrosinase-related-protein, TRP-2) (Kwon et al., 1993) sowie gp-100, und MART-1 / Melan A. Sie sind gewebespezifische Differenzierungsantigene und werden normalerweise in Melanozyten der Haut oder der Retina exprimiert.

Es sind zwei Fragmente der Tyrosinase beschrieben worden, welche von zytotoxischen T-Lymphozyten in Verbindung mit HLA-A2 erkannt werden (Wölfel et al., 1994). Das eine entspricht den ersten neun Aminosäuren der Tyrosinase Signalsequenz während das andere den Aminosäuren 368-376 des Proteins entspricht.

## **1.2.2 Immuntherapie**

Das relativ häufige Auftreten verschiedener immunologischer Phänomene wie z.B. die spontane Tumorregression oder die spontane Involution von Metastasen haben das Melanom zu einem wichtigen Modell zur Erprobung immunologischer

Therapieansätze gemacht (Parkinson, 1992). Bei der Immuntherapie wird versucht die körpereigene Abwehr zu aktivieren und zur Tumorbekämpfung einzusetzen. Dabei unterscheidet man aktive und passive sowie spezifische und unspezifische Therapie. Substanzen, die eine aktive unspezifische Antwort im Körper auslösen sind z.B: Zytokine, BCG, Thymusextrakte und Mistelpräparate. Sie sollen die zelluläre Immunabwehr stimulieren, wobei Interferone und Interleukine eine direkte antiproliferative Wirkung auf Tumorzellen ausüben.

Eine Möglichkeit für eine aktive spezifische Immuntherapie besteht im Einsatz von Impfstoffen (autologe oder allogene Tumorzellen bzw. Tumorantigene) gegen den Tumor. Die Impfung von Patienten mit eigenen Tumorzellen wird derzeit klinisch getestet. Die Impfung von Patienten mit neuentdeckten Tumorantigenen befindet sich noch in einem frühen experimentellen Stadium.

Bei der passiven Immuntherapie werden einem Patienten Substanzen verabreicht, die direkt den Tumor angreifen können. Zu diesen Substanzen zählen monoklonale Antikörper (passiv-humoral) sowie patienteneigene, lymphokin-aktivierte Killerzellen (LAK-Zellen) (Lotze et al., 1980) oder tumorinfiltrierende Lymphozyten (TIL-Zellen) (Rosenberg et al., 1986).

Alle bisherigen Ansätze zur unspezifischen Stimulation des Immunsystems waren bisher ohne durchschlagenden therapeutischen Erfolg. Hingegen wurden verschiedene hochspezifische zytotoxische T-Lymphozyten (CTL) aus peripheren Blut von Melanompatienten isoliert, die gezielt (autologe) Melanomzellen töten konnten (Boon et al., 1994; Houghton, 1994).

Die Fortschritte in der Grundlagenforschung haben neue immunologische Therapiemöglichkeiten des malignen Melanoms eröffnet. Diese basieren auf der Entdeckung, daß Melanomzellen durch die körpereigene Tumorabwehr hochspezifisch abgetötet werden können (Boon et al., 1994). Aus Tiermodellen ist bekannt, daß dafür oft nur eine gewisse Konzentration eines bestimmten Zytokins, z.B. IL-2, IL-7, IL-12, IFN- $\gamma$  oder GM-CSF, in der unmittelbaren Umgebung des Tumors notwendig ist. Tierversuche mit genmanipulierten Melanomzellen, die vermehrt Zytokine produzieren, bewirkten eindrucksvolle Tumorrückbildungen. Weltweit sind daher auch Studien am Menschen mit verschiedenen Therapieansätzen initiiert worden. In einer klinische Studie wurden Melanomzellen aus patienteneigenen Metastasen gewonnen und gentechnisch manipuliert, so daß sie entweder IL-7, IL-12, oder GM-CSF sezernieren (Schadendorf et al., 1994). Es wird vermutet, daß die Patienten nach Impfung mit ihren eigenen durch Bestrahlung abgeschwächten, aber dennoch Zytokin produzierenden Melanomzellen, in der Lage sind, eine systematische Immunantwort gegen den Tumor zu entwickeln.

Ein zweiter Therapieansatz, der die Krebsimpfung zum Ziel hat, basiert nicht auf der Vakzinierung mit patienteneigenen Melanomzellen, sondern auf einer Impfung mit einzelnen Peptidfragmenten die von melanosomalen Proteinen abgeleitet wur-

den. Die potentielle Wirksamkeit dieses Ansatzes ist ebenfalls schon gezeigt worden indem es gelang zytotoxische Lymphozyten aus dem Blut von Tumorpatienten, die eine starke immunologische Abwehrreaktion gegen den Tumor aufwiesen, zu isolieren (Boon et al., 1994b; Rosenberg, 1994).