

Zusammenfassung

Der adoptive T-Zelltransfer ist eine viel versprechende Form der Tumorthherapie. Die Infusion von Donor T-Lymphozyten für die Behandlung von Virusinfektionen (Cytomegalovirus und Epstein-Barr-Virus) und einigen wenigen Krebsarten hat sich als sehr effektiv erwiesen. Für die meisten Tumorarten ist jedoch die Isolierung und *in vitro* Vermehrung von Tumor-spezifischen T-Zellen nicht möglich. Eine Abhilfe für dieses Problem kann der Transfer von anti-Tumorspezifität schaffen, wie zum Beispiel der retrovirale Transfer von T-Zell Rezeptor (TCR)-Genen in periphere Blut-Lymphozyten (PBL). In dieser Arbeit habe ich verschiedene retrovirale Vektoren bezüglich ihrer Gentransfereffizienz in T-Lymphozyten analysiert. Dazu wurde das grün fluoreszierende Protein (GFP) in Vektoren mit verschiedenen *cis*-regulatorischen Elementen kloniert. Das Promotor/„Enhancer“ Paar des „long terminal repeats“ (LTR) des myeloproliferativen Sarkom-Virus (MPSV) war dabei dem Paar des LTR des Moloney-Maus-Leukämie-Virus (MoMLV) und einem Paar aus dem MoMLV Promotor und dem „Enhancer“ des CD2-Gens überlegen. Der Einsatz einer modifizierten „leader“-Sequenz und des posttranskriptionellen regulatorischen Elements (PRE) des Waldmurmeltier-Hepatitis-B-Virus führte zu einer Erhöhung der Transgenexpression bzw. des Virustiters. Die Expressionsuntersuchungen ergaben, dass die Kombination aus der LTR des MPSV, der modifizierten „leader“-Sequenz und des PRE geeignet ist, um Gene in Maus- und humanen T-Zellen in hohem Maße und für längere Zeit zu exprimieren. Des weiteren wurde gezeigt, dass sich das ecotrope MoMLV, bzw. das amphotrope 10A1-MLV-Hüllprotein, gut eignen, um Maus-, bzw. humane T-Zellen, zu transduzieren. Der Austausch des GFP durch TCR α und β -Ketten-Gene, verbunden durch eine interne Ribosomen-Eintrittsstelle, ergab ähnliche Expressionsergebnisse. Der transferierte TCR-26 wurde aus dem Nierenzellkarzinom-spezifischen Tumor-infiltrierenden Lymphozyten Klon-26 gewonnen. Die TCR-26-modifizierten T-Zellen zeigten dieselbe Spezifität wie der Ursprungsklon. Auch war die anti-Tumorreaktivität, gemessen als Zytokinfreisetzung und Zellyse, der beiden Zellpopulationen vergleichbar. Die über einen Zeitraum von 100 Tagen analysierte TCR-Expression war stabil. Diese Ergebnisse zeigen, dass der Transfer von anti-Nierenzellkarzinomspezifität auf primäre T-Zellen möglich ist, und somit ein adoptiver T-Zelltransfer als Nierenzellkarzinomtherapie denkbar.