

Aus der Klinik für Onkologie und Hämatologie, CCM,  
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

Dissertation

**Zelluläre Immunantwort gegen die Tumorantigene Muzin  
und Telomerase bei Patienten mit Mammakarzinom**

Zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charite –  
Universitätsmedizin Berlin

von

Konrad Kokowski  
aus Gorzów Wielkopolski

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. G. Pecher  
2. Priv.-Doz. Dr. med. U. Bockmühl  
3. Priv.-Doz. Dr. med. E. Matthes

Datum der Promotion: 05.07.2006

# Inhaltsverzeichnis

	<b>Seite</b>
Abkürzungsverzeichnis	I-II
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Erkennung von Tumoren durch das Immunsystem.....	1
1.2 Effektorzellen der immunologischen Tumorabwehr.....	3
1.3 Tumorantigene.....	5
1.3.1 Tumorantigen Muzin, kodiert durch das Gen MUC1.....	7
1.3.2 Tumorantigen Telomerase (hTERT).....	9
1.4 Immunantwort gegen Tumorantigene.....	10
1.4.1 Immunologische Besonderheiten des Mammakarzinoms.....	11
1.4.2 Immunantwort gegen Muzin.....	12
1.4.3 Immunantwort gegen Telomerase.....	14
1.5 Assays zur Quantifizierung der zellulären Immunantwort.....	16
1.5.1 Tetramer Assay.....	17
1.5.2 Limiting Dilution Assay.....	18
1.5.3 Elispot Assay.....	18
1.5.4 Interferon-gamma Assay.....	19
1.5.5 Andere Methoden.....	19
1.6 Aufgabenstellung.....	20
<b>2 Material und Methoden</b> .....	<b>21</b>
2.1 Material.....	21
2.1.1 Patienten und Kontrollgruppen.....	21
2.1.2 Geräte und Verbrauchsmaterialien.....	23
2.1.3 Puffer und Lösungen.....	24
2.1.4 Medien und Zusätze.....	24
2.1.5 Kits.....	25
2.1.6 Antikörper.....	25
2.1.7 Peptide.....	25

<b>2.2</b>	<b>Methoden.....</b>	<b>26</b>
2.2.1	Gewinnung von Blut.....	26
2.2.2	Isolierung mononuklearer Zellen aus dem peripheren Blut.....	26
2.2.3	Kultivierung der PBMCs.....	27
2.2.4	Bestimmung der Zellzahl.....	27
2.2.5	Tetramer – Assay.....	27
2.2.6	Interferon-gamma Assay.....	28
2.2.7	Durchflusszytometrie.....	29
2.2.8	Statistische Auswertung.....	30
<b>3.</b>	<b>Resultate.....</b>	<b>31</b>
<b>3.1</b>	<b>Immunantwort gegen Muzin.....</b>	<b>31</b>
3.1.1	Gesunde Probanden.....	31
3.1.2	Patienten mit Mammakarzinom.....	34
3.1.3	Patienten mit anderen Karzinomen.....	37
<b>3.2</b>	<b>Immunantwort gegen Telomerase.....</b>	<b>39</b>
3.2.1	Gesunde Probanden.....	39
3.2.2	Patienten mit Mammakarzinom.....	39
3.2.3	Patienten mit anderen Karzinomen.....	42
<b>3.3</b>	<b>Verlaufsanalyse der zellulären Immunantwort .....</b>	<b>43</b>
3.3.1	Verlauf der Immunantwort gegen Muzin.....	43
3.3.2	Verlauf der Immunantwort gegen Telomerase.....	44
<b>3.4</b>	<b>Immunogenität der Tumorantigene gemessen mit Interferon-gamma Assay . .....</b>	<b>44</b>
3.4.1	Immunogenität des Tumorantigens Muzin .....	45
3.4.2	Immunogenität des Tumorantigens Telomerase.....	46
<b>3.5</b>	<b>Klinischer Verlauf ausgewählter Patienten .....</b>	<b>46</b>
<b>4.</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>49</b>
<b>4.1</b>	<b>Diskussion der für die Quantifizierung der Immunantwort verwendeten Methoden.....</b>	<b>49</b>
4.1.1	Tetramer-Test.....	49
4.1.2	Interferon- $\gamma$ -Sekretionstest.....	51

<b>4.2</b>	Frequenzen der antigenspezifischen T-Zellen.....	51
4.2.1	Muzin .....	51
4.2.2	Telomerase.....	53
<b>4.3</b>	Immunogenität von Tumorantigenen.....	54
4.3.1	Muzin.....	54
4.3.2	Telomerase.....	56
<b>4.4</b>	Änderungen der Frequenzen in zeitlichem Verlauf.....	57
4.4.1	Muzin.....	57
4.4.2	Telomerase.....	57
<b>4.5</b>	Klinischer Verlauf bei den Patienten.....	58
<b>4.6</b>	Schlussfolgerungen und Ausblick.....	59
<b>5.</b>	Zusammenfassung.....	60
<b>6.</b>	Literaturverzeichnis.....	61
<b>7.</b>	Lebenslauf.....	72
<b>8.</b>	Danksagung.....	74