

Aus der  
Charité - Centrum für Tumormedizin (14)  
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt  
Hämatologie und Onkologie  
Campus Virchow Klinikum  
Direktor: Professor Dr. med. B. Dörken

## Habilitationsschrift

# **Zelluläre Immunkontrolle der EBV-Infektion: Entwicklung von immuntherapeutischen Ansätzen bei EBV-assozierten Malignomen**

zur Erlangung der Lehrbefähigung  
für das Fach Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät der  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Sabine Marion Subklewe  
geboren am 26. Juli 1967 in Pasadena / USA

Dekan: Professor Dr. med. Martin Paul

1. Gutachter: Professor Dr. med. Arnold Ganser

2. Gutachter: Professor Dr. med. Georg Bornkamm

Datum des öffentlich-wissenschaftlichen Vortrages: 19. November 2007

**Für**  
**Charlotte, Otto, Annie und Hans**  
**Roland**  
**Elke, Wolfgang und Jessi**

**Inhaltsverzeichnis:**

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>5</b>
<b>1.1 Epstein Barr Virus (EBV)</b> .....	<b>5</b>
1.1.1 Entdeckung und Epidemiologie .....	5
1.1.2 Molekulare Eigenschaften des EBV .....	5
1.1.3 Pathogenese der akuten und chronischen EBV-Infektion.....	7
<b>1.2 EBV-assoziierte Malignome</b> .....	<b>9</b>
1.2.1 Burkitt Lymphom .....	9
1.2.2 Morbus Hodgkin .....	11
1.2.3 Nasopharynx-Karzinom.....	12
1.2.4 PTLD .....	13
<b>1.3 Dendritische Zellen</b> .....	<b>15</b>
1.3.1 Morphologie, Differenzierung und Reifung von DC .....	15
1.3.2 Antigenpräsentation und Crosspräsentation durch DC .....	16
1.3.3 Priming, Proliferation und Polarisierung von T Zellen durch DC .....	17
1.3.4 DC zur aktiven und passiven Immunisierung .....	18
<b>1.4 Zusammenfassende Darstellung des Habilitationsthemas</b> .....	<b>18</b>
1.4.1 Kurzfassung .....	20
<b>2. Eigene Arbeiten</b> .....	<b>21</b>
<b>2.1 EBV-spezifische T-Zellantworten in gesunden EBV+ Trägern</b> .....	<b>21</b>
2.1.1 EBV-spezifische CD8 T-Zellantworten in gesunden EBV+ Trägern .....	21
2.1.2 EBV-spezifische CD4 T-Zellantworten in gesunden EBV+ Trägern .....	21
<b>2.2 EBV-spezifische CD8 und CD4 T-Zellantworten in Patienten mit PTLD</b> .....	<b>22</b>
<b>2.3 Prognose- und Risikofaktoren für PTLD</b> .....	<b>23</b>
2.3.1 EBV Last als Prognosemarker .....	23
2.3.2 HLA-Haplotyp und Inzidenz von PTLD.....	23
<b>2.4 DC als APC für die Induktion von EBV-spez. T Zellantworten</b> .....	<b>24</b>
2.4.1 DC vs LCL als APC für die Induktion von EBV-spez. T Zellen .....	24
2.4.2 DC crosspräsentieren EBV-spezifische Antigene.....	25
<b>2.5 DC zur Therapie von EBV-assoziierten Erkrankungen</b> .....	<b>26</b>
2.5.1 Generation von DC von gesunden Spendern .....	26
2.5.2 EBV-Antigen beladene DC zur Induktion von EBV-spezifischen T Zellen.....	27
2.5.3 DC von immunsupprimierten Patienten.....	28
<b>3. Relevante Originalarbeiten</b> .....	<b>30</b>
<b>3.1 EBV-spezifische T-Zellantworten in gesunden EBV+ Trägern</b> .....	<b>30</b>
<b>3.2 EBV-spezifische CD8 und CD4 T-Zellantworten in Pat. mit PTLD</b> .....	<b>31</b>
<b>3.3 Prognose- und Risikofaktoren für PTLD</b> .....	<b>32</b>
<b>3.4 DC als APC für die Induktion von EBV-spezifischen T-Zellantworten</b> .....	<b>33</b>
<b>3.5 DC zur Therapie von EBV-assoziierten Erkrankungen</b> .....	<b>34</b>
<b>4. Diskussion</b> .....	<b>35</b>
<b>4.1 EBV-spezifische T-Zellantworten in gesunden EBV+ Trägern</b> .....	<b>35</b>
<b>4.2 EBV-spezifische T-Zellantworten in Patienten mit PTLD</b> .....	<b>36</b>
<b>4.3 Prognose- und Risikofaktoren für PTLD</b> .....	<b>38</b>
<b>4.4 DC als APC für die Induktion von EBV-spezifischen T-Zellantworten</b> .....	<b>40</b>
<b>4.5 DC zur Therapie von EBV-assoziierten Erkrankungen</b> .....	<b>41</b>
<b>5. Zusammenfassung</b> .....	<b>43</b>

<b>6. Literaturverzeichnis</b> .....	<b>46</b>
<b>7. Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>60</b>
<b>8. Danksagungen</b> .....	<b>62</b>
<b>9. Eidesstattliche Erklärung</b> .....	<b>64</b>

## 7. Abkürzungsverzeichnis

Ak	Antikörper
AIDS	„Acquired Immunodeficiency Virus“
APC	Antigen-präsentierende Zelle
ARL	„AIDS related Lymphoma“
BDCA	„Blood dendritic cell antigen“
BL	Burkitt Lymphom
bp	Basenpaar(e)
BZLF-1	Gen für Z-Transaktivator oder Z-Transaktivator
CTL	Zytotoxische T-Lymphozyten
DC	Dendritische Zelle
DC-LAMP	DC-Lysosomen-assoziiertes Membranprotein
DC-SIGN	DC-spez. ICAM3-bindendes Non-Integrin
EA	„Early Antigen“
EBER	Epstein-Barr-Virus-encoded RNA
EBNA	„Epstein-Barr-Virus-encoded nuclear antigen“
EBV	Epstein-Barr-Virus
ELISPOT	Enzyme linked Immunospot
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
GM-CSF	Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor
Gly / Ala	Glycin / Alanin
HAART	Hochaktive antiretrovirale Therapie
HD	“Hodgkin disease”
HHV8	Humanes Herpesvirus 8
HIV	Humanes Immunschwäche-Virus
HLA	Humanes Leukozyten Antigen
ICAM	Interzelluläres Adhäsionsmolekül
IFN	Interferon
IL	Interleukin
IM	Infektiöse Mononukleose
LCL	Lymphoblastoide Zelllinie
LCMV	Lymphozytäres Choriomeningitis Virus

LDA	„Limiting Dilution Assay“
LFA	Leukozytenfunktionsantigen
LMP	Latentes Membranprotein
MHC	„Major Histocompatibility-Complex“
NHL	Non-Hodgkin Lymphom
NPC	Nasopharynx-Karzinom
PBL	„Primary Brain Lymphoma“
PBMC	Mononukleäre Zellen aus peripherem Blut
PhD	“Doctor of Philosophy”
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin E2
PTLD	“Post-Transplant-Lymphoproliferative Disease”
rVV	rekombinanter Vaccinia Virus
TAP	“Transporter associated with presentation”
Th1	T Helferzellen
TNF- $\alpha$	“Tumor Necrosis Factor”
TX	Transplantation
TZR	T-Zellrezeptor
UV	ultraviolettes Licht
VCA	Viruskapsid-Antigen
WHO	“World Health Organisation”

## 8. Danksagung

Ich bedanke mich bei Herrn Professor Dr. med. B. Dörken, dem Ärztlichen Direktor der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie des Virchow-Klinikums, für die klinische Ausbildung und Unterstützung meiner Forschungsaktivitäten. Er hat es mir ermöglicht, meine wissenschaftlichen und klinischen Ambitionen mit einem ausgefüllten familiären Lebensweg in Einklang zu bringen. Durch seine Unterstützung konnte ich meinen persönlichen Traum von Beruf und Familie verwirklichen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. A. Pezzutto für seine kontinuierliche Unterstützung meiner klinischen und wissenschaftlichen Tätigkeit. Sein Enthusiasmus und sein Engagement sowohl für klinische als auch für immunologische Fragestellungen sind für mich Inspiration und Vorbild.

Herrn Professor Dr. R. Steinman, Laboratory of Cellular Physiology and Immunology, Rockefeller University, New York, USA, danke ich für die immunologische Ausbildung, die mir die spannende Welt der Dendritischen Zellen eröffnet hat.

Herrn Professor Dr. med. L. Kanz danke ich ganz besonders für seine berufliche und familiäre Unterstützung. Seine Begeisterung für klinische und wissenschaftliche Fragestellungen hat mich beeindruckt und inspiriert. Sein klinisches Engagement und seine wertvolle Unterstützung für meine Schwester Jessica sind unvergesslich.

Ich bedanke mich auch bei meinem früheren Chef, Herrn Prof. Dr. med. R. Mertelsmann, dem Ärztlichen Direktor der Medizinischen Klinik, Abteilung für Hämatologie und Onkologie, Universitätsklinik Freiburg, der mein Interesse für die Hämatologie / Onkologie verstärkt hat und mir die Möglichkeiten von klinischer und wissenschaftlicher Arbeit aufgezeigt hat.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Cure for Lymphoma Foundation danke ich für die großzügige Unterstützung meiner Forschungsaktivitäten.

Ich danke der Forschungskommission der Charité für die Unterstützung. Herrn Professor Dr. med. R. Wauer danke ich für sein Engagement für den wissenschaftlichen Nachwuchs und speziell für das Rahel-Hirsch Programm, ohne das diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Ich bedanke mich bei zahlreichen Kolleginnen und Kollegen in Freiburg, Tübingen, New York und Berlin für die freundliche und kollegiale Atmosphäre in Klinik und Wissenschaft.

Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern meiner Arbeitsgruppe danke ich für ihre Arbeit. Ich bedanke mich besonders für den Einsatz von Frau Dipl. Ing (FH) A. Block, Frau Dipl. biochem. K. Sebelin-Wulf, Herrn Dipl. Ing. (FH) T. Nguyen, Herrn cand. med. R. Marquis, Frau A. Schulzki und Frau C. Beier.

Ich bin sehr dankbar, dass ich meinen Weg zusammen mit meinen Freunden gehen konnte, die mich uneingeschränkt unterstützt und ermuntert haben. Ich bedanke mich ganz besonders bei Herrn Dr. med. Klaus Löhmer, Frau Dr. med. Annika Stadler und Frau Dr. med. Beate Heineking.

Zum Schluss möchte ich den wichtigsten Menschen in meinem Leben danken, meiner Familie. Ohne ihre Unterstützung und ihre Liebe wäre diese Arbeit und vieles andere nicht möglich gewesen. Ich danke für ihr Verständnis und ihre Zuversicht und für das Lebensmotto: „Du fragst mich, was soll ich tun? Und ich sage: Lebe wild und gefährlich, Artur“.

## 9. Eidesstattliche Erklärung

gemäß der Habilitationsordnung der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- keine staatsanwaltschaftlichen Ermittlungsverfahren gegen mich anhängig sind
- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind.
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, Januar 2007

Dr. med. Sabine Marion Subklewe