

## Götz · Antigenität von Tumorproteinen



# Antigenität von Tumorproteinen

Hilde Götz

Mit 19 Abbildungen  
und 6 Tabellen



Walter de Gruyter · Berlin · New York 1972

Hilde Götz, Prof. Dr. med., Leiterin des Forschungslaboratoriums für Transplantations- und Tumorummunologie an der Chirurg. Univ. Klinik und Poliklinik der FU Berlin, Klinikum Westend

ISBN 3 11 004052 2

©

Copyright 1972 by Walter de Gruyter & Co., vormals G. J. Göschen'sche Verlagshandlung J. Guttentag, Verlagsbuchhandlung – Georg Reimer – Karl J. Trübner – Veit & Comp., Berlin 30. Alle Rechte, auch die des auszugsweisen Nachdruckes, der photomechanischen Wiedergabe, der Herstellung von Mikrofilmen und der Übersetzung vorbehalten. – Satz und Druck: Mercedes-Druck, Berlin – Printed in Germany

## Vorwort

In vorliegender Niederschrift wird der Versuch gemacht, aus der Komplexität der Probleme der Immunonkologie Wesen und klinische Bedeutung der Antigenität von Tumorproteinen darzulegen. Dies geschieht unter Zugrundelegung eigener, sowohl experimenteller als auch klinischer Untersuchungsbefunde sowie der Forschungsergebnisse der einschlägigen Literatur. Dabei erhebt diese relativ kurz gefaßte Monographie nicht den Anspruch auf die Vermittlung eines umfassenden Wissensgutes aus der Fülle der Ergebnisse der Grundlagenforschung dieses modernen Zweiges der Immunologie, sie soll vielmehr unter einer größeren Gruppe von Kollegen und Studierenden das Interesse für das Gebiet der Immunonkologie und deren Bedeutung nicht nur für die Grundlagenforschung sondern auch für die praktische und klinische Medizin wecken.

In einer Einführung werden zunächst die Konzepte der relativ älteren Literatur über die immunologischen Auseinandersetzungen eines tumorbefallenen Organismus mit den Antigenen seiner malignen Geschwulst aufgeführt.

In einem zweiten Abschnitt über „Lösliche Proteine aus Tumorhomogenaten“ werden vorwiegend eigene, vergleichende Studien an menschlichen Normalgewebs- und Tumorhomogenaten beschrieben. Es handelt sich dabei im wesentlichen um agarelektrophoretische, biochemische sowie immunologische Untersuchungsbefunde, die auf ersten Versuchen aus den Jahren 1960 und 1962 aufgebaut wurden. Darüber hinaus finden sich experimentelle Ergebnisse an tumortragenden Ratten.

In einem letzten Abschnitt wird auf die neueren Erkenntnisse auf dem Gebiet der Immunonkologie, hier insbesondere auf das Wesen der „Tumorspezifischen Transplantationsantigene“ eingegangen. Nach Abhandlung und Erläuterung der wichtigsten Begriffe und Wirkungsweisen tumorspezifischer Immunphänomene folgt auch in diesem Kapitel die Darlegung eigener, experimenteller sowie klinischer Beiträge.

An den experimentellen Untersuchungen hat in den Jahren zwischen 1964 und 1968 eine Reihe von Doktoranden der Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg (Abteilung für klinische Immunologie des Universitätskrankenhauses, Vorstand: Prof. Dr. F. Scheiffarth) und in den Jahren 1970/71 der

Freien Universität Berlin (Chirurgische Universitätsklinik im Klinikum Westend, Direktor: Prof. Dr. E. S. Bücherl) mitgewirkt.

Mein Dank gilt vor allem meinem langjährigen Lehrer, Herrn Professor Scheiffarth, der mich dazu angeregt hat, Grundlagen, insbesondere methodische Grundlagen auf dem Gebiet der Immunologie zu erwerben, und der es verstanden hat, mich und alle seine Schüler für die Wechselwirkungen zwischen antigenen Faktoren und immunologisch kompetentem System eines entsprechenden Organismus zu interessieren. Mein Dank gilt aber nicht minder Herrn Prof. Dr. N. Henning, an dessen Klinik ich dahingehend geschult wurde, Erkenntnisse der Grundlagenforschung auf die klinische Praxis zu übertragen, eine Aufgabe, die sich als eine der schwierigsten im Verlaufe meiner Ausbildung und Hochschullaufbahn erwiesen hat. Herrn Prof. Dr. E. S. Bücherl, an dessen Klinik ich derzeit vorwiegend für Fragen der Transplantationsimmunologie und der Probleme Kunststoff – Blut tätig bin, danke ich sehr für sein großzügiges Entgegenkommen, die Arbeiten auf dem Gebiet der Immunonkologie intensiv fortführen zu können.

Berlin, im September 1972

Hilde Götz



2.1.2.4.2.	Befunde an den menschlichen Normalgewebs- und Tumorhomogenat-Paaren .....	33
2.1.2.4.3.	Befunde an den Homogenaten der normalen Skelettmuskulatur der Ratte und entsprechender, rattentransplantabler maligner Tumoren .....	38
2.2.	Tierexperimentelle Untersuchungen zur Aufklärung antigener Tumoreigenschaften .....	39
2.2.1.	Übersicht über die verschiedenen Versuchsreihen .....	40
2.2.1.1.	Trägartiere .....	40
2.2.1.2.	Sensibilisierung mit dem Homogenat transplantabler Tumoren .....	40
2.2.1.3.	Passive Übertragung eines spezifischen Anti-Tumorsersums vor Transplantation .....	40
2.2.1.4.	Passive Übertragung eines spezifischen Anti-DNS-Serums vor Transplantation .....	40
2.2.1.5.	Austauschtransplantation inoculierter Tumoren unter Paaren ein und derselben Zucht .....	41
2.2.1.6.	Austauschtransplantation inoculierter Tumoren unter Rattenpaaren verschiedener Herkunft .....	41
2.2.2.	Methodik .....	41
2.2.2.1.	Transplantationstechnik .....	41
2.2.2.2.	Sensibilisierung mit dem Homogenat transplantabler Tumoren .....	42
2.2.2.3.	Herstellung verschiedener Antiseren .....	42
2.2.2.3.1.	Anti-Tumorseren .....	42
2.2.2.3.2.	Anti-DNS-Serum .....	42
2.2.2.4.	Tumorexstirpation (Operationstechnik) .....	43
2.2.2.5.	Antikörper-Nachweismethoden .....	43
2.2.2.5.1.	Passive Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN .....	43
2.2.2.5.2.	Zweidimensionale Immun-Doppeldiffusion nach OUCHTERLONY .....	43
2.2.2.5.3.	Immunfluoreszenz-Technik nach COONS .....	44
2.2.2.6.	Sonstige Serumanalysen .....	44
2.2.2.6.1.	Agarelektrophorese .....	44
2.2.2.6.2.	Papierlektrophorese .....	45
2.2.2.6.3.	Statistische Auswertung papierlektrophoretischer Befunde .....	45
2.2.2.6.4.	Immunelektrophorese .....	45
2.2.2.6.5.	Nachweis von Tumorantigenen im peripheren Blut .....	45
2.2.3.	Ergebnisse .....	45
2.2.3.1.	Ergebnisse der Vorversuche (Sensibilisierung von Kaninchen) .....	45
2.2.3.1.1.	Sensibilisierung mit Tumorhomogenat .....	45
2.2.3.1.2.	Sensibilisierung mit DNS-Lösung .....	46

2.2.3.2. Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe I (Trägartiere) . . . . .	46
2.2.3.2.1. Beobachtungen an den Transplantaten . . . . .	46
2.2.3.2.2. Papierelektrophoretische Befunde der Serumproteine . . . . .	46
2.2.3.2.3. Agarelektrophoretische Befunde . . . . .	48
2.2.3.2.4. Immunelektrophoretische Befunde . . . . .	51
2.2.3.2.5. Passive Hämagglutination . . . . .	51
2.2.3.2.6. Immunpräzipitation im Agargel . . . . .	51
2.2.3.2.7. Antigen-(Tumorfaktor-)Nachweis . . . . .	52
2.2.3.2.8. Fluoreszenzoptische Ergebnisse . . . . .	52
2.2.3.3. Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe II . . . . .	52
2.2.3.3.1. Beobachtungen an den Versuchstieren . . . . .	52
2.2.3.3.2. Verhalten der Serumeiweißkörper . . . . .	52
2.2.3.3.3. Immunelektrophoretische Befunde . . . . .	52
2.2.3.3.4. Passive Hämagglutinationsreaktion . . . . .	53
2.2.3.3.5. Präzipitin-Nachweis . . . . .	53
2.2.3.3.6. Immunfluoreszenzoptische Befunde . . . . .	54
2.2.3.4. Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe III . . . . .	54
2.2.3.4.1. Beobachtungen an den Versuchstieren . . . . .	54
2.2.3.4.2. Befunde der Serumproteine und Serumfermente . . . . .	54
2.2.3.4.3. Immunelektrophoretische Befunde . . . . .	54
2.2.3.4.4. Passive Hämagglutinationsreaktion . . . . .	55
2.2.3.4.5. Präzipitationsreaktion im Agargel . . . . .	55
2.2.3.4.6. Immunfluoreszenzoptische Befunde . . . . .	56
2.2.3.5. Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe IV . . . . .	56
2.2.3.5.1. Beobachtungen an den Tieren . . . . .	56
2.2.3.5.2. Serumprotein- und Serumferment-Befunde . . . . .	56
2.2.3.5.3. Antikörper-Nachweisreaktionen . . . . .	57
2.2.3.6. Ergebnisse der Kontrollgruppe zu III—IV . . . . .	57
2.2.3.6.1. Beobachtungen an den Tieren . . . . .	57
2.2.3.6.2. Serumprotein- und Serumferment-Befunde . . . . .	57
2.2.3.6.3. Antikörper-Nachweisreaktionen . . . . .	57
2.2.3.6.4. Fluoreszenzoptische Befunde . . . . .	57
2.2.3.7. Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe V . . . . .	57
2.2.3.7.1. Beobachtungen an den Tieren . . . . .	57
2.2.3.7.2. Serumproteinveränderungen . . . . .	58
2.2.3.7.3. Antikörper-Nachweisreaktionen . . . . .	58
2.2.3.8. Ergebnisse der Hauptversuchsgruppe VI . . . . .	58
2.2.3.8.1. Beobachtungen an den Versuchstieren . . . . .	58
2.2.3.8.2. Verhalten der Serumproteine . . . . .	59
2.2.3.8.3. Antikörper-Nachweisreaktionen . . . . .	59
2.3. Diskussion . . . . .	60
2.4. Zusammenfassung . . . . .	74
<b>3. Tumorspezifische Transplantationsantigene: TSTA . . . . .</b>	<b>76</b>
3.1. Derzeitiger Wissensstand . . . . .	76
3.1.1. Einführendes . . . . .	76

3.1.2. Theorien zur Entstehung von Tumorantigenen .....	80
3.1.2.1. Entstehung primärer Tumorantigene .....	80
3.1.2.2. Entstehung sekundärer Tumorantigene .....	83
3.1.2.3. Entstehung von Pseudotumorantigenen .....	83
3.1.3. Spezielle Tumorantigene .....	84
3.1.3.1. Antigene experimentell erzeugter Tumoren .....	84
3.1.3.1.1. Antigene chemisch induzierter Tumoren .....	84
3.1.3.1.2. Antigene durch oncogene Viren induzierter Tumoren .....	85
3.1.3.2. Antigene menschlicher Tumoren .....	85
3.1.3.2.1. BURKITT-Lymphom und lymphomatöse System- erkrankungen.....	86
3.1.3.2.2. Leukämien .....	87
3.1.3.2.3. Melanom .....	87
3.1.3.2.4. Intestinale Carcinome .....	88
3.1.3.2.5. Mamma-Carcinom.....	89
3.1.3.2.6. Chorionepitheliom .....	89
3.1.3.2.7. Bronchialcarcinom .....	90
3.1.3.2.8. GRAWITZ-Tumor (Hypernephrom) .....	90
3.1.3.2.9. Prostata-Carcinom.....	90
3.1.3.2.10. Harnblasencarcinom .....	91
3.1.4. Techniken zum Nachweis tumorspezifischer Antikörper und Antigene .....	91
3.1.4.1. Methoden zum Nachweis tumorspezifisch sensibilisierter Lymphozyten .....	91
3.1.4.2. Methoden zum Nachweis tumorspezifischer oder tumor- assoziierter, molekularer Antikörper .....	92
3.1.4.3. Methoden zum Nachweis tumorspezifischer Antigene .....	94
3.1.5. Faktoren und Wirkungsmechanismen, welche die Antigenität von TSTA zu blockieren oder zu ändern vermögen.....	95
3.1.5.1. Immuntoleranz .....	95
3.1.5.2. Antigenmodulation .....	96
3.1.5.3. Immunselektion.....	96
3.1.5.4. Enhancement .....	96
3.1.5.5. Sponge-Phänomen .....	97
3.1.5.6. Immuninsuffizienz.....	97
3.1.5.6.1. Antikörpermangelsyndrom (AKMS).....	97
3.1.5.6.2. Thymektomie, Milzexstirpation .....	98
3.1.5.6.3. Immunsuppressive Therapie .....	89
3.1.5.6.4. Immuninsuffizienz mit zunehmendem Alter.....	89
3.2. Eigene Untersuchungsergebnisse .....	99
3.2.1. Experimentelle Untersuchungen über die Antigenität tiertransplan- tabler Tumoren .....	99
3.2.1.1. Untersuchungsgut und Versuchsanordnung .....	99
3.2.1.2. Methodik .....	101
3.2.1.3. Ergebnisse .....	102

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>XI</b>
<b>3.2.2. Klinisch faßbare Immunphänomene</b> .....	<b>105</b>
<b>3.2.2.1. Patientengut, Untersuchungstechniken und Befunde einer Gruppe I</b> .....	<b>105</b>
<b>3.2.2.2. Patientengut, Untersuchungstechniken und Befunde einer Gruppe II</b> .....	<b>107</b>
<b>3.2.3. Schlußbetrachtungen zu den eigenen Befunden</b> .....	<b>108</b>
<b>Literatur I</b> .....	<b>111</b>
<b>Literatur II</b> .....	<b>119</b>
<b>Sachregister</b> .....	<b>123</b>



# 1. Einführung

Die Beobachtungstatsache, daß sich Tumorgewebe histologisch wie auch histochemisch von seinem Ursprungsgewebe in mehr oder weniger charakteristischer Weise unterscheidet, hat bereits um die Jahrhundertwende das Forschungsgebiet der Immunologie, dessen Domäne bis dahin in der Aufklärung bakteriell verursachter Antigen-Antikörper- bzw. Toxin-Antitoxin-Reaktionen bestand, stark befruchtet. Die auf dem von nun an neuen Sektor der Immunologie erschienenen tierexperimentellen Arbeiten und später auch klinischen Untersuchungen nahmen prinzipiell ihren Ausgangspunkt von der Vorstellung, daß Tumorproteine zufolge ihrer Strukturänderung gegenüber Normalproteinen – durch Kern- oder Plasmamutation – die Fähigkeit besitzen, in einem Wirtsorganismus Antigenität zu entfalten und somit einen Sensibilisierungsvorgang mit der aktiven Produktion tumorspezifischer Antikörper zu induzieren.

Tumorimmunologie ist eng verknüpft mit Transplantationsforschung. Sie bedient sich der Möglichkeit, Gewebe, Zellfiltrate oder, wie hier, Spontan-tumoren im Tierversuch zu übertragen. Die dabei auftretenden Reaktionen verlaufen nach den Gesetzmäßigkeiten der Transplantationsreaktion. Es lag nahe, gegen solche Impftumoren zu sensibilisieren und die dabei ablaufenden immunologischen sowie serologisch faßbaren Vorgänge und Phänomene zu studieren. So gelang es Paul EHRlich bereits 1906 [66a, b] am Modell des nach ihm benannten Ascites-Tumors der Maus durch Vorbehandlung mit Tumorextrakten oder mit vermehrungsunfähigen Tumorzellen, das Angehen mitotisch aktiver Zellen des gleichen Tumors zu verhindern oder zumindest erheblich hintanzuhalten. Auch nach operativer Entfernung erfolgreich transplanteder Impftumoren war eine Neu-Inokulation desselben Tumorzellenmaterials nicht mehr möglich. Gleiche Ergebnisse erzielten schon vor EHRlich BASHFORD, 1903 [14a], BORELL, ebenfalls 1903 [32] sowie JENSEN [129a, b] und andere [14b, 157], später LEWIN [155a, b, c], ROUS und MURPHY [207], DOMAGK [61a, b, c, d, e] u. a. m. [15, 21a, b, 47, 63, 73a, b, c, 113a, b, c, d, e, f, 116, 144, 243, 250]. Durch erweiterte oder variierte Versuchsanordnung verschiedener anderer Autoren [74, 111a, b, c, 183] konnte jedoch auch gezeigt werden, daß nach Vorbehandlung mit spezifischem Tumorzellantigen die Transplantate des

gleichen Malignoms in höherem Maße angingen als bei unvorbehandelten Kontrolltieren. SUGIURA und BENEDICT [244a, b] sowie BERDEL und Mitarbeiter [17, 18] haben durch entsprechende Nachuntersuchungen und die dabei gewonnenen Ergebnisse diese scheinbar widerspruchsvollen Resultate zu erklären versucht: Es handelt sich nach deren Ansicht bei der Tumorummunologie um eine in Stufen oder Phasen ablaufende allergische Reaktivität des tumortragenden Organismus (Abb. 1). In den ersten Phasen

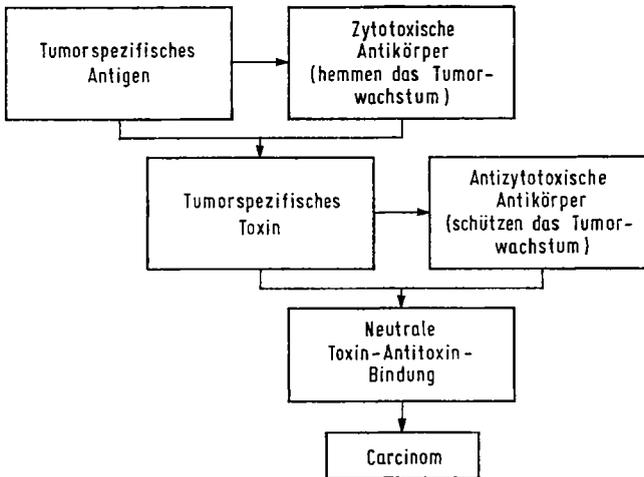


Abb. 1 Schema der allergischen Stufenreaktion nach BERDEL, BUDECKE und WIEDEMANN [17]

vollzieht sich unter dem Einfluß eines tumorspezifischen Antigens eine Sensibilisierung des Wirtsorganismus sowie die Bildung tumorspezifischer Antikörper, die ihrerseits mit dem Antigen der Tumorzelle eine spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion bewirken und zur Zytolyse der Tumorzelle führen. Aufgrund des spezifisch zellständigen Ablaufes der Antigen-Antikörper-Reaktion und der damit einhergehenden zytolytischen Wirkung werden diese Reaktionen und die dabei auftretenden Antikörper als „zytotoxische“ Antikörper bezeichnet [225a, b]. Für die Existenz solcher – im übrigen auch zirkulierender – Antikörper sprechen die Untersuchungsergebnisse verschiedener Autoren, denen es gelang, durch passive Übertragung des Serums von mit Tumorantigen sensibilisierten Tieren auf andere, nicht vorbehandelte, das Tumorwachstum frisch transplantiert gleichartiger Malignome zu verhindern oder merklich zu hemmen [61, 62,