Das immunstimulierende Protein 90K beim Ovarialkarzinom

A.G.		Zeimet ^a
C.		Marth ^a
D.		Fuchs ^b
M.		Herold ^c
M.		Widschwendter ^a
G.		Daxenbichler ^a
S.		Iacobelli ^d
O.		Dapunt ^a

^aUniversitätsklinik für Frauenheilkunde, ^bInnsbruck, Institut für Medizinische Chemie und Biochemie, Universität Innsbruck, und ^cUniversitätsklinik für Innere Medizin, Innsbruck, Österreich; ^dCattedra di Oncologia Medica, Università G. D'Annunzio, Chieti, Italien

Key Words

Tumor immunology
Protein 90K
Interferon
Ovarian cancer

Zusammenfassung

Beim Protein 90K handelt es sich um ein von Tumorzellen produziertes Molekül, das sowohl zu einer Steigerung der zytotoxischen Aktivität von lymphokinaktivierten und natürlichen Killerzellen als auch zu einer Zunahme der IL-2-Freisetzung aus peripheren **Blutlymphozyten** führt. Wir haben einen stimulierenden Effekt von IFN- α und IFN- γ auf die Expression von 90K-spezifischer mRNA und Proteinfreisetzung zeigen können. Des weiteren scheint rekombinantes 90K die Zellen der monozytären Makrophagenreihe zu aktivieren. Das **tumorassoziierte** immunstimulierende Protein 90K könnte ein wichtiges Bindeglied zwischen Tumor und Immunsystem darstellen.

Dr. A.G. Zeimet, Universitätsklinik für Frauenheilkunde, Anichstrasse 35, A-6020 Innsbruck (Österreich)

Schlüsselwörter

Tumorimmunologie Ovarialkarzinom Protein 90K Interferon

Protein 90K Stimulates the Immune System in Ovarian Cancer

Protein 90K is a tumor-associated antigen, which is able to enhance the cytotoxic activity in lymphokine-activated and natural killer cells as well as the IL-2 release in peripheral blood lymphocytes. In our in vitro experiences we observed a stimulatory effect by IFN- α and IFN- γ on 90K-specific mRNA expression and protein release in ovarian cancer cells, and 90K was furthermore found to be a potent stimulator of macrophage activity. Protein 90K seems to be involved in tumor immunology; it may represent a critical link between tumor and immune system.

Ergebnisse und Methoden

In einer In-vitro-Versuchsreihe haben wir in drei Ovarialkarzinom-Zelllinien (OVCAR-3, HTB-77 und SKOV-6) zeigen können, dass sowohl Interferon (IFN) α als auch IFN- γ die Expression der 90K-spezifischen mRNA und die Sekretion von Protein 90K dosisabhängig zu steigern vermögen ($p < 0,05$). Während die intrazelluläre Konzentration des Proteins 90K im Rahmen der 3-tägigen IFN- γ -Behandlung trotz einer erhöhten mRNA-Expression signifikant abfiel ($p < 0,05$ vs. Kontrolle), führte IFN- α trotz einer gesteigerten Freisetzung zusätzlich zu einer intrazellulären Anreicherung von Protein 90K ($p < 0,05$ vs. Kontrolle). Die induktive Wirkung von IFN- α war der des IFN- γ sowohl in der Expression der spezifischen mRNA als auch in der Protein-90K-Sekretion deutlich überlegen. Eine Behandlung der angeführten Zelllinien mit Tumornekrosefaktor α (TNF- α) führte zu keinem konsistenten Ergebnis in Bezug auf die 90K-Expression und -Freisetzung. Demgegenüber konnte vor allem in einer kombinierten Behandlung von TNF- α mit IFN- γ eine synergistische Verstärkung der mRNA-Expression und der 90K-Sekretion gezeigt werden. Dieser Synergismus war weit weniger ausgeprägt, wenn TNF- α mit IFN- α kombiniert wurde.

Die myelomonozytische Zelllinie THP-1 diente in einem anderen Versuchsansatz zur Untersuchung einer möglichen Wirkung des immunstimulierenden Proteins 90K auf die Aktivität der Zellen der monozytären Makrophagenreihe. Sowohl die Neopterinproduktion als auch der Tryptophanabbau stellen verlässliche Indikatoren zur Messung der Makrophagenaktivität dar. Eine Behandlung der THP-1-Zellen mit 50 $\mu\text{g/ml}$ rekombinantem Protein 90K führte zu einem signifikanten Anstieg der Neopterinproduktion ($p < 0,05$), ohne dass jedoch ein Effekt im Abbau von Tryptophan nachgewiesen werden konnte. Erst durch eine Vorbehandlung mit 100 E/ml IFN- γ wurde eine durch 90K mediierte, dosisabhängige Steigerung des Tryptophanabbaus fassbar. Hinsichtlich der Neopterinproduktion konnte unter gleicher IFN-Vorbehandlung ein synergistischer Induktionseffekt erzielt werden.

In vivo hingegen ergab sich in 150 Ovarialkarzinompatientinnen die Beziehung zwischen den Serum-90K-Konzentrationen und den Harnneopterinwerten nicht als signifikant ($p = 0,08$; $rs = 0,188$). Zwischen den Serumneopterin- und Serum-90K-Werten konnte nicht einmal andeutungsweise eine kohärente Beziehung festgestellt werden ($p = 0,75$; $rs = 0,022$). Demgegenüber wurden eine Korrelation zwischen Serum 90K, Tumorgrading und postoperativem Tumorrest ($rs = 0,2264$ bzw. $0,2319$; $p < 0,05$) sowie eine sehr enge Beziehung zum löslichen IL-2-Rezeptor ($rs = 0,4376$; $p = 0,001$) nachgewiesen. Diese Beziehung zeigte sich auch in einem schrittweisen logistischen Regressionsmodell als unabhängig von allen anderen Variablen. In den Überlebensanalysen zeigte sich ein signifikant besseres Gesamtüberleben bei Patientinnen mit prätherapeutischen 90K-Serumwerten unter einem Grenzwert von 6,3 E/ml (= Medianwert des Gesamtkollektivs) im Vergleich zu Patientinnen mit höheren 90K-Serumwerten ($p < 0,03$). In einer multivariaten Cox-Regression zeigte sich jedoch, dass 90K keinen unabhängigen Prognosefaktor darstellt. In der vorliegenden Studie waren lediglich der Tumorrest, das Tumorgrading ($p < 0,0001$) sowie die prätherapeutische Harnneopterin-Konzentration ($p = 0,048$) von unabhängiger prognostischer Signifikanz.

Diskussion

Zusätzlich zu den bislang bekannten Einflüssen des tumorassoziierten Proteins 90K auf das zelluläre Immunsystem muss aufgrund unserer am THP-1-in-vitro-Modell erzielten Ergebnisse eine weitere stimulierende Wirkung dieses Moleküls auf die Zellen der monozytären Makrophagenreihe angenommen werden. Des Weiteren konnte eindeutig gezeigt werden, dass das Protein 90K unter dem Einfluss von potenten Immunmodulatoren in Ovarialkarzinomzellen verstärkt produziert und sezerniert wird [1]. Die aus In-vitro-Daten hergeleitete Vorstellung,

dass die immunstimulierenden Effekte von 90K wenigstens teilweise über das Zytokin IL-2 mediert werden [2], scheint sich durch eine in unserem Kollektiv von 150 Ovarialkarzinompatientinnen erhobene strenge Korrelation zwischen dem Serum 90K und dem löslichen IL-2-Rezeptor zu bestätigen. Aufgrund der für das Protein 90K aus der Literatur bekannten [2, 3] und durch uns gezeigten stimulatorischen Eigenschaften auf das zelluläre Immunsystem ist man geneigt, an eine Selbstlimitierung der Tumorexpansion durch eine tumoreigene 90K-Produktion zu denken. Unsere klinischen Ergebnisse zeigten jedoch gegen alle Erwartungen, dass hohe prätherapeutische 90K-Serumspiegel beim Ovarialkarzinom wenigstens in der univariaten Überlebensanalyse mit einer schlechteren Prognose assoziiert sind. Diese Daten werden durch In-vivo-Ergebnisse von anderen unterstützt. Hohe prätherapeutische 90K-Serumwerte wurden beim Mammakarzinom ebenfalls als negativer Prognosefaktor beschrieben [4]. Aber auch auf der Ebene der lokalen Tumorexpression von 90K konnten Foekens et al. [5] anhand von Zytosoluntersuchungen keinen günstigen Effekt auf den Krankheitsverlauf beim Mammakarzinom feststellen. Das immunstimulierende Protein 90K scheint zusammen mit dem löslichen IL-2-Rezeptor und dem Harnneopterin zu jenen Molekülen zu gehören, die beim Tumorpatienten auf eine latente bzw. partielle Aktivierung der Immunkaskade hinweisen, die jedoch, wie am deutlichsten beim Neopterin gezeigt, mit einer schlechten Prognose einhergehen. Es deutet einiges darauf hin, dass ein «chronisch» aktiviertes Immunsystem über lokale Wachstums- und/oder Angiogenesefaktoren dem Tumor Überlebens- und Expansionsvorteile bieten konnte. Das tumorassoziierte immunstimulierende Protein 90K konnte ein entsprechendes «Bindeglied» zwischen Tumor und Immunsystem darstellen.

Literatur

Marth C, Dreps A, Natoli C, Zeimet AG, Lang T, Widschwendter M, Daxenbichler G, Ullrich A, Iacobelli S: Effects of type-I and -II interferons on 90K antigen expression in ovarian carcinoma cells. *Int J Cancer* 1994;59:808-813.

Ullrich A, Sures I, d'Egidio M, Jallal B, Powell TJ, Herbst R, Dreps A, Azam M, Rubinstein M, Natoli C, Shawyer L, Schlessinger J, Iacobelli S: The secreted tumor-associated antigen 90K is a potent immune stimulator. *J Biol Chem* 1994;269:18401-18407.

Jallal B, Powell J, Zachwieja J, Brakebusch C, Germain L, Jacobs J, Iacobelli S: Suppression of tumor growth in vivo by local and systemic 90K level increase. *Cancer Res* 1995;55:3222-3227.

Iacobelli S, Sismondi P, Giai M, d'Egidio M, Tinari N, Amatetti C, di Stefano P, Natoli C: Prognostic value of a novel circulating serum 90K antigen in breast cancer. *Br J Cancer* 1994; 69:172-176.

Foekens JA, Klijn JGM, Natoli C, Van Putten WLJ, di Stefano P, Look MP, Portegen H, Iacobelli S: Expression of tumor-associated 90K-antigen in human breast cancer: No correlation with prognosis and response to first-line therapy with tamoxifen. *Int J Cancer* 1995;64:130-134.

Fortbildung: Symposium

Gynäkol Geburtshilfliche Rundsch 1996;36:37-45