

## 2. **Arbeits- und Ergebnisbericht zum Teilprojekt C1**

Thema des Projekts: **Etablierung eines Pankreaskarzinom-Xenograft-Modells als zentrale Ressource**

PD Dr. F. Gansauge, PD Dr. T. Gress\*, Prof. Dr. B. Jilge\*\*

Abteilung Allgemeine Chirurgie, Universitätskliniksklinikum  
Ulm

Abteilung Innere Medizin I, Universitätskliniksklinikum Ulm\*  
Tierforschungszentrum, Universität Ulm\*\*

### 2.1 **Kenntnisstand bei der letzten Antragstellung und Ausgangsfragestellung**

Xenograftmodell:

Hier war die Ausgangsfragestellung, eine funktionierende Ressource für Pankreaskarzinomgewebe, humane Pankreaskarzinom-Xenografts sowie eine sichere und zuverlässige Datenbank aufzubauen.

Entsprechend dem Bewilligungsschreiben der DFG sollte aus dem nicht geförderten Teilprojekt B8 die systematische Bearbeitung und Analyse von Pankreasmaterial innerhalb des Teilprojekts C1 gefördert werden. In diesem Bereich des Projekts wurde die nachfolgende Fragestellung bearbeitet:

Charakterisierung der infiltrierenden Immunzellen beim Pankreaskarzinom:

Ausgangsfragestellung war bei diesem Projektteil, die infiltrierenden Immunzellen im Pankreaskarzinomgewebe nach Zahl, Art und Funktion zu charakterisieren. Zudem sollten bei Pankreaskarzinompatienten die peripheren Immunzellen nach Zahl und Funktion untersucht werden.

### 2.2 **Angewandte Methoden**

Xenograftmodell:

Die Gewebe wurden unmittelbar nach intraoperativer Entnahme in Matrigel aufgenommen und innerhalb einer Stunde subcutan in SCID-Mäuse implantiert. Der verbleibende Teil des Gewebes wurde kryopräserviert bzw. in Paraffin eingebettet.

Charakterisierung der infiltrierenden Immunzellen beim Pankreaskarzinom:

Zur Charakterisierung der infiltrierenden Immunzellen wurde primär die Immunhistologie eingesetzt. Bei den in-vitro Untersuchungen kamen die gängigen molekularbiologischen Techniken wie Westernblot, RT-PCR, Immunpräzipitation zur Anwendung. Die funktionellen Analysen der Lymphozyten wurden mittels Blastests und quantitativer Auswertung im FACS durchgeführt. Zusätzlich wurden ELISAs zur Bestimmung der Serumkonzentrationen bestimmter Zytokine durchgeführt.

### **2.3 Ergebnisse und ihre Bedeutung**

Xenograftmodell:

In der vergangenen Förderperiode hat sich deutlich herauskristallisiert, welche wichtige Rolle eine zentrale Ressource zur Gewebeasservierung, Datenerfassung und Betreuung des Xenograftmodells hat. In der vergangenen Förderperiode konnte das Xenograftmodell sicher etabliert werden, die Angehrten liegen, wie bei anderen Arbeitsgruppen auch, bei 60%. Zudem wurden für mehrere Arbeitsgruppen des SFB 518 Zelllinien-Xenografts angefertigt. Die Gewebeasservierung sowie die Datenerfassung und datenschutzkonforme Verwaltung der Patientendaten wurde erfolgreich etabliert und durchgeführt.

Charakterisierung der infiltrierenden Immunzellen beim Pankreaskarzinom:

Im Rahmen des Projektes C1 des SFB 518 (lokale und systemische Immunsuppression im Pankreaskarzinom) konnten wir erstmals zeigen, daß bei Patienten mit Pankreaskarzinom eine deutliche systemische Immundysfunktion vorliegt. Insbesondere das T-zelluläre System ist hierbei betroffen, wohingegen die unspezifische Abwehr kaum betroffen zu sein scheint (1). Bei Patienten mit Pankreaskarzinomen fanden sich deutlich erniedrigte Serumspiegel von IL-2, wohingegen die Serumwerte für TNF-alpha, TGF- $\beta$  oder IL-1 deutlich erhöht waren (Abb. 1). Desweiteren war die blastogene Response bei diesen Patienten im Vergleich zu einem alters- und geschlechtsgematchten Kontrollkollektiv hochsignifikant verringert (Abb. 2) Ähnliches, wenngleich nicht so stark ausgeprägt, fand sich auch bei Patienten mit einer chronischen Entzündung der Bauchspeicheldrüse (2). Lokal fanden wir eine deutliche Sekretion von Lysozym, was der lokalen unspezifischen Abwehr zuzurechnen ist, als Zeichen einer unspezifischen Immunaktivierung (3). Die Charakterisierung der peritumoralen Immunzellen im Pankreaskarzinom zeigte eine prozentuale Verteilung, die den bisherigen Berichten anderer Arbeitsgruppen durchaus vergleichbar war. Erstmals konnten wir im Pankreaskarzinom nachweisen, daß die Expression der zeta-Kette des T-Zellrezeptors

peritumoral dysreguliert ist (4). Inwieweit dieser Verlust der zeta-Kette durch den Fc-Rezeptor substituiert wird ist derzeit in Arbeit. Seitens der Arbeit lokale/systemische Immunaktivitätsmarker konnten wir erstmals beweisen, daß sCD44v6 zum größten Teil von aktivierten Monozyten sezerniert wird (5).

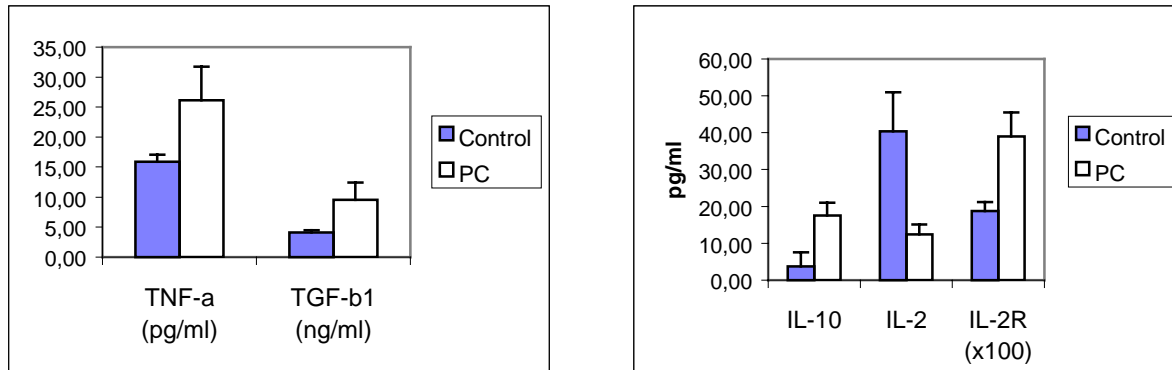


Abbildung 1

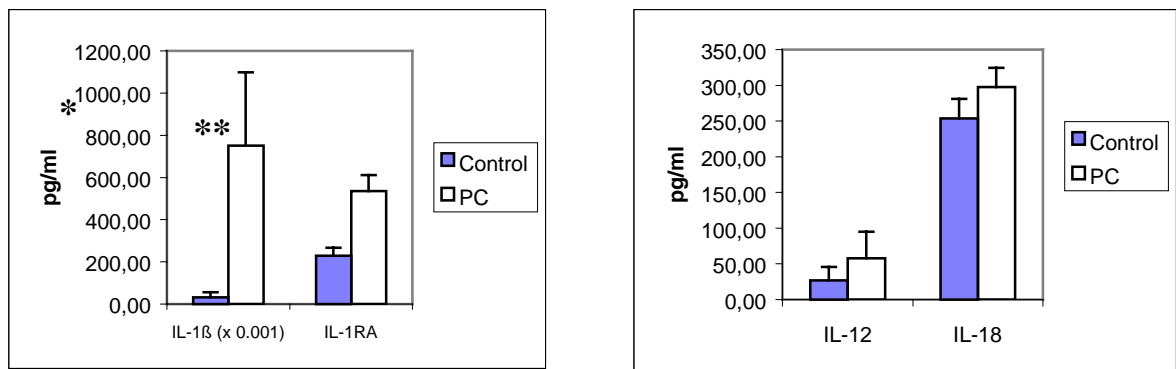


Abbildung 1: \*:p < 0.05, \*\*:p<0.01

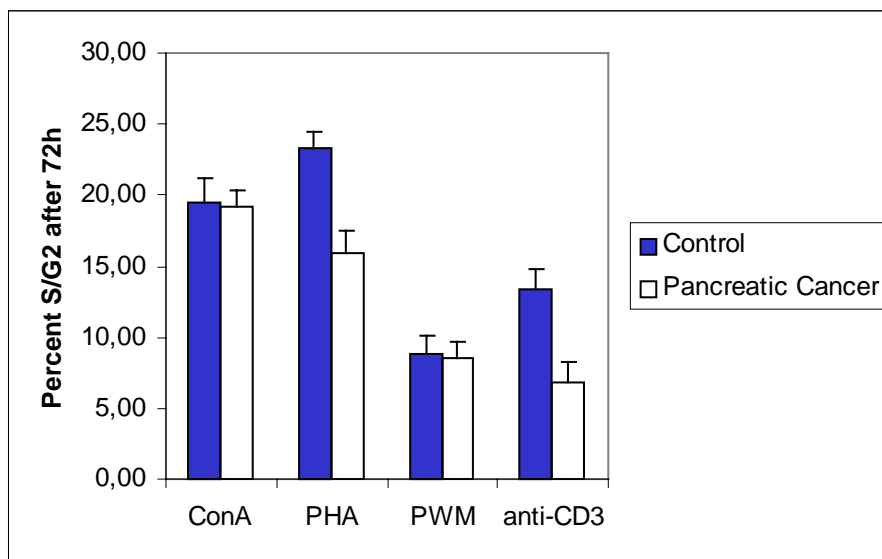


Abbildung 2

## 2.4 Vergleiche mit Arbeiten außerhalb des Sonderforschungsbereichs und Reaktionen der wissenschaftlichen Öffentlichkeit auf die eigenen Arbeiten

Die Ergebnisse der Charakterisierung der Immundysfunktion stießen auf breites Interesse seitens der wissenschaftlichen Öffentlichkeit, was sich anhand zahlreicher Vortragseinladungen und begonnenen Kooperationen zeigt. Besonders hervorzuheben ist die Kooperation mit dem Athen`s Cancer Center.

Seitens der klinischen Umsetzung werden die Ergebnisse die wissenschaftliche Grundlage für eine neue Studie zur Chemo-Immuntherapie beim Pankreaskarzinom (Gemcitabine, IL-2) sein was deutlich den wissenschaftlichen und auch gesellschaftlichen Wert der innerhalb der letzten Förderperiode dokumentiert.

## 2.5 Offene Fragen

Die offenen Fragen nach der Immundysfunktion bei der chronischen Pankreatitis, dem Einfluß der Chem- bzw. Immuntherapie auf die tumorinfiltrierenden Immunozyten sowie den Mechanismus der Immundysfunktion sollen im Folgeantrag bearbeitet werden.

## 2.6 Publikationen (1998-2000)

### Projektteil Xenograft-Modell:

Wallrapp, C., Hähnel, S., Boeck, W., Soder, A., Mincheva, A., Lichter, P., Leder, G., Gansauge, F., Sorio, C., Scarpa, A., Gress, T.M. Loss of the Y-chromosome is a frequent chromosomal imbalance in pancreatic cancer and allows differentiation to chronic pancreatitis. Int.J.Cancer in press.

### Projektteil Immunzellen beim Pankreaskarzinom:

1. **F. Gansauge**, H. Braumüller, S. Gansauge, M. Scheler, P. Kern, **H.G. Beger**. Systemic immune dysfunction in pancreatic cancer patients. Ann Surg., submitted
2. **F. Gansauge**, S. Gansauge, **J. Mayer**, W. Schlosser, M. Eh, P. Kern, **H.G. Beger**. Distributional and functional alterations of immunocompetent peripheral blood lymphocytes in chronic pancreatitis patients. Ann. Surg., in press
3. M. Ramadani, **F. Gansauge**, S. Gansauge, Z. Stankovic, G. Leder, **H.G. Beger**. Overexpression of lysozyme in pancreatic cancer: an independent prognostic marker for postoperative survival. Ann Surg., submitted
4. H. Braumüller, S. Gansauge, **H.G. Beger**, **F. Gansauge**. Downregulation of the T-cell receptor zeta chain in peritumoral lymphocytes in pancreatic cancer. Cancer Res. submitted

5. H. Braumüller, S. Gansauge, M. Ramadani, **F. Gansauge**. CD44v6 cell surface expression is a common feature of macrophages and macrophage-like cells – implication for a natural macrophage extravasation mechanism mimicked by tumor cells. *FEBS Lett.* 476:240-247, 2000
6. **H.G. Beger, F. Gansauge, J. Mayer**. The role of immunocytes in acute and chronic pancreatitis: when friends turn into enemies (Editorial) *Gastroenterology* 118:626-629, 2000.

