

Eine neuartige Verbindung von Genom- und funktioneller Proteomanalyse mit direktem Anwendungspotential für künftige Krebsimmuntherapie-Strategien

– Abschlussbericht NGFN2 EP-S37T01 –

Mathias M. Schuler, Andreas O. Weinzierl, Hans-Georg Rammensee

Das Projekt handelte von zwei Aspekten der Tumorimmunologie. Zum einen sollte die Verknüpfung zweier zellulärer Phänomene erforscht werden – die mRNA-Expression und die Dicht von MHC-Peptid-Komplexen. Zum anderen erwarteten wir die Entdeckung neuer tumorassoziierter Antigene, welche direkt in unseren Krebsimmuntherapiestudien Verwendung finden konnten.

Im ersten Jahr des Projekts wurden die benötigten Methoden etabliert und angepasst. Der Hauptteil des Projekts, der quantitative Vergleich zwischen Transkriptom und HLA-Ligandom in Nierenzellkarzinomen wurde in Angriff genommen. Die differentielle quantitative Analyse von HLA-Liganden aus humanen Primärproben wurde durch das Material vieler Krebspatienten realisiert und war reproduzierbar. Genexpressionsanalysen mit Oligonukleotid-Microarrays wurden in Kooperation mit der Microarray Facility Tübingen durchgeführt. Die Zahl der identifizierten Peptide der Nierenzellkarzinome deckte sich mit unseren Erwartungen. Es befanden sich am Ende des ersten Projektjahres 728 präsentierte Peptidpaare von Tumor- und Normalgewebe in unseren Daten. Sequenzen und Verhältnisse sind von 335 Peptidpaaren bekannt, RNA-Daten von 245 Paaren. Um die Korrelation zwischen den quantitativen Zahlen zwischen Transkriptom und HLA-Ligandom zu untersuchen, wurde der hierfür notwendige Datensatz im zweiten Projektjahr ausgeweitet.

Die Vergleichbarkeit zwischen Peptid- und RNA-Verhältnissen wurde dadurch bestimmt, dass die Daten den gleichen Verteilungen angehören. Da sowohl RNA- als auch Peptiddaten normalverteilt sind (Abbildung 1) konnte eine erste Korrelationsuntersuchung durchgeführt werden.

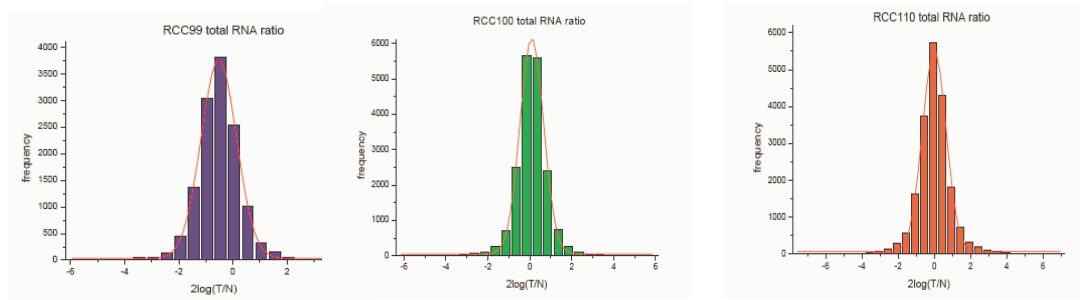


Abbildung 1: Die Genexpressionsdaten von drei Tumoren ist normalverteilt.

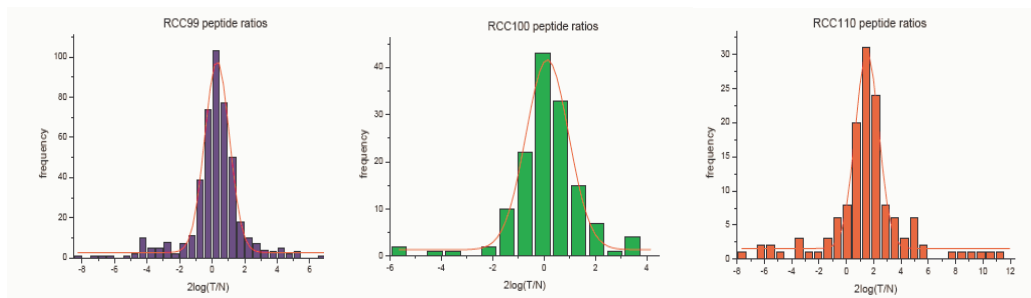


Abbildung 2: Normalverteilung von HLA-präsentierten Peptiden in drei getesteten Tumor-HLA-Liganden.

Ein Vergleich mithilfe einer linearen Regression zeigt eine schwache Korrelation zwischen Unterschieden im Transkriptom und dem Ligandum mit einem Korrelationskoeffizienten $r = 0,3$ (Abbildung 3).

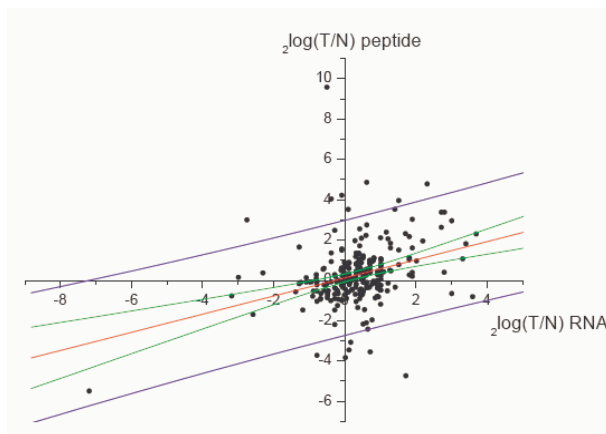


Abbildung 3: Korrelation zwischen Unterschieden im Transkriptom und im HLA-Ligandum. Die unterschiedlichen Verhältnisse wurden mithilfe einer Standardregression berechnet und zeigen mit einem Korrelationskoeffizienten $r=0,3$ eine schwache Korrelation.

Neuere Daten bestätigen, dass sich Normalgewebe von Tumorgewebe hinsichtlich des Transkriptom und des HLA-Ligandoms unterscheiden. Jedoch ist der Unterschied zwischen Normalgewebe und Tumoren größer als der zwischen Tumoren und Metastasen.

Literatur

Krüger T, Schoor O, Lemmel C, Krämer BF, Reichle C, Eberle U, Häntschel M, Obermayr F, Dengjel J, Weinschenk T, Müller M, Hennenlotter J, Stenzl A, Rammensee HG, Stevanovic S (2005) Lessons to be learned from primary renal cell carcinomas: Novel tumor antigens and HLA ligands for immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 54:826-836

Krämer BF, Schoor O, Krüger T, Reichle C, Müller M, Weinschenk T, Hennenlotter J, Stenzl A, Rammensee HG, Stevanovic S (2005) MAGED4 – Expression in renal cell carcinoma and identification of an HLA-A*25-restricted MHC class I ligand from solid tumor tissue. *Cancer Biol Ther* 4:943-948

Lemmel C, Weik S, Eberle U, Dengjel J, Kratt T, Becker HD, Rammensee HG, Stevanovic S (2004) Differential quantitative analysis of MHC ligands using stable isotope labelling in mass spectrometry. *Nat Biotechnol* 22:450-454

Schag K, Schmidt SM, Müller MR, Weinschenk T, Appel S, Weck MM, Grünebach F, Stevanovic S, Rammensee HG, Brossart P (2004) Identification of c-met oncogene as a broadly expressed tumor associated antigen recognized by cytotoxic T-lymphocytes. *Clin Cancer Res* 10:3658-3666

Weinzierl AO, Lemmel C, Schoor O, Müller M, Krüger T, Wernet D, Hennenlotter J, Stenzel A, Klinkel K, Rammensee HG, Stevanovic S. Distorted relation between mRNA copy number and corresponding major histocompatibility complex ligand density on the cell surface. *Mol Cell Proteomics*. 2007 Jan;6(1):102-113.