

Zusammenfassung

In Papillomvirus-positiven Läsionen der Zervix uteri wurde eine verminderte Anzahl an Langerhanszellen detektiert. Diese Zellen sind die einzigen Antigen-präsentierenden Zellen im Epithel. MIP-3 α (*macrophage inflammatory protein*), ein Chemokin das wichtig für deren Migration ins Epithel ist, wird ebenfalls gering exprimiert. Dagegen wurde bereits in hochgradigen zervikalen intraepithelialen Neoplasien eine erhöhte Expression der Matrixmetalloproteinase 9 (MMP-9) detektiert. MMP-9 ist eine Gelatinase, die eine wichtige Rolle bei der Angiogenese, beim Tumorwachstum und der Invasion spielt. Dabei korreliert eine erhöhte Expression mit einer schlechten Prognose für die Patientin.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die retrovirale Expression der HPV16-Onkogene E6 und E7 in Keratinozyten zu einer verminderten basalen MIP-3 α Expression führte. Auch die Tumornekrosefaktor α -induzierte MIP-3 α -Expression war in Onkogen-positiven Keratinozyten inhibiert.

In situ Analysen konnten zeigen, dass hauptsächlich im Stroma von Zervixkarzinomen Gelatinaseaktivität nachweisbar war. Während Fibroblasten und (prä-)neoplastische Zellen *in vitro* keine MMP-9 exprimierten, wurde *in situ* in monozytären Zellen, die in die Läsionen einwandern, MMP-9-Expression nachgewiesen. Kokulturrexperimente zeigten, dass Zervixkarzinomzellen und präneoplastische Zellen auch *in vitro* die Produktion der pro-MMP-9 in Monozyten und unreifen dendritischen Zellen über lösliche Faktoren induzieren können.

Einen Hinweis auf beteiligte Signalwege ergaben *in situ* Analysen zervikaler intraepithelialer Neoplasien, in denen Phospho-STAT3(Tyr705)-Aktivität nachgewiesen wurde. Entsprechend konnte *in vitro* herausgearbeitet werden, dass Überstände (prä-)neoplastischer Zellen in Monozyten und teilweise auch noch in unreifen dendritischen Zellen zur STAT3-Aktivierung führten und über diesen Signalweg die Expression von pro-MMP-9 induzierten. Neutralisierungsexperimente zeigten, dass eine besonders hohe IL-6-Produktion einer Zervixkarzinomzelllinie für die pro-MMP-9-Induktion in unreifen dendritischen Zellen verantwortlich war.

MMP-9 spielt auch eine wichtige physiologische Rolle bei der Migration von dendritischen Zellen ins lymphatische Gewebe. Eine Grundvoraussetzung für die gerichtete Wanderung ist die Expression des Chemokinrezeptors CCR7. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass Überstände (prä-)neoplastischer Zellen jedoch die Hochregulation von CCR7 in LPS-

gereiften dendritischen Zellen verhindern. Darüberhinaus konnte gezeigt werden, dass die Morphologie dieser Zellen nicht der klassischen Morphologie dendritischer Zellen entspricht. Diese Arbeit zeigt zum ersten Mal einen Mechanismus auf, bei dem Zellen des Immunsystems durch (prä-)neoplastische Papillomvirus-positive Zellen so umprogrammiert werden, dass Antigen-präsentierende Funktionen eher unterdrückt und tumorfördernde Eigenschaften induziert werden.

Abstract

A reduced number of langerhans cells was detected in cervical papillomavirus-positive lesions. These cells are the only antigen-presenting cells within the epithelium. MIP-3 α (*macrophage inflammatory protein*), a chemokine essential for migration of langerhans precursor cells into the epithelium, is expressed at low levels. In contrast, high expression of the matrixmetalloproteinase 9 (MMP-9) was detected in high grade intraepithelial lesions and squamous cell carcinoma. Gelatinase MMP-9 plays an important role in angiogenesis, tumor progression and invasion. High MMP-9 expression correlates with poor prognosis for the patient.

Here it could be shown, that retroviral expression of HPV16 oncogenes E6 and E7 in keratinocytes leads to reduced expression of basal MIP-3 α expression. Tumor necrosis factor α -induced MIP-3 α expression was also inhibited in oncogene-positive keratinocytes.

Gelatinase activity is mainly detected in the stroma of cervical carcinomas as shown by *in situ* analysis. While fibroblasts and (pre-)neoplastic cells did not express MMP-9 *in vitro*, pro-MMP-9 expression was detected in infiltrating monocytes *in situ*. Soluble factors produced by cervical carcinoma cells and preneoplastic cells induced pro-MMP-9 production in monocytes and immature dendritic cells *in vitro* as shown by coculture experiments.

Analysis of phospho-STAT3(Tyr705) activity in cervical intraepithelial neoplasia *in situ* indicated possible signaling pathways involved. Correspondingly, supernatants of (pre-)neoplastic cells lead to STAT3 activation in monocytes and in part in dendritic cells in *in vitro* experiments, leading to pro-MMP-9 expression in these cells. High IL-6 expression of one cervical carcinoma cell line was responsible for pro-MMP-9 induction in immature dendritic cells as demonstrated by neutralization experiments.

MMP-9 is a physiological key role player during migration of dendritic cells into the lymphatic vessels. Directed migration requires the expression of the chemokine receptor CCR7. The up-regulation of CCR7 in LPS-matured dendritic cells is, however, inhibited by supernatants of (pre-)neoplastic cells. In addition to that, the classical morphology of dendritic cells was altered by these supernatants.

This work reveals a new mechanism, how (pre-)neoplastic papillomavirus-positive cells instruct cells of the immune system to suppress antigen-presenting functions and rather to promote tumor progression.