PD Dr. med. Wilfried Bieger

Privat-Praxis für Stressmedizin
München

Funktionen des adaptiven Immunsystems

Januar 2014

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

PD Dr. med. Wilfried Bieger
Privat-Praxis für Neurostress - München
Mehr Info: www.Dr-Bieger.de
Kontakt: wilfried.bieger@t-online.de – 089 -5432 170

Funktionen des adaptiven Immunsystems: das TH1 – TH2 Paradigma

Das zelluläre Immunsystem zeichnet sich durch außerordentliche funktionelle Plastizität aus, die es im ermöglicht auf eine enorme Vielfalt von Herausforderungen adäquat zu reagieren und den Schutz des Individuums zu sichern.

T-Zellentwicklung

T-Zellen entwickeln sich im Thymus aus lymphatischen Vorläuferzellen, die aus dem Knochenmark einwandern. Unter dem Einfluss von Zytokinen und Wachstumsfaktoren differenzieren sich die T-Zellvorläuferzellen zu kompletten T-Zellen mit funktionalen T-Zellrezeptoren (TCR).

Der unendlich vielfältige Pool unterschiedlicher T-ZellRezeptoren entsteht durch genomisches Rearrangement von Genen, die die verschiedenen Segmente der TCR-Units kodieren. Aus variablen (V), diversifizierenden D), verbindenden (J) und konstanten (C) Abschnitten werden die alpha-, beta-, gamma- und delta-Ketten der TCR‘s nach dem Zufallsprinzip geformt. Sie arrangieren sich mit den γδεζ-CD3-Units zum kompletten multifunktionalen TCR-Komplex.

Die große Mehrheit der T-Zellrezeptoren sind sog. αβ-Rezeptoren, bestehend aus alpha- und beta-Ketten, nur ein geringer Prozentsatz aus gamma/delta-Ketten. Die Bildung kompletter αβ- oder γδ-TCR’s markiert den Übergang von der pro-T-Zelle zur doppelt positiven T-Zelle, die sowohl CD4 als auch CD8 exprimiert.

Die weitere Reifung der CD4CD8-Zellen zu einfach positiven $CD3^+CD4^+CD8^-$-Zellen bzw. $CD3^+CD4^-CD8^+$-Zellen (Thymozyten) erfolgt durch positive und negative Selektion unter Beteiligung von MHC-Molekülen und Selbstantigenen, sog. TRA‘s („Tissue-restricted antigens“; körpereigene Peptide).

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Die Thymus-spezifischen TRA's werden von epithelialen medullären Zellen im Kontext mit sog. AIRE („Autoimmune Regulator") exprimiert. Wenn doppelt positive T-Zellen an Selbst-MHC mit niedriger Avidität binden, werden sie positiv selektioniert, nicht-bindende T-Zellen werden durch Apoptose eliminiert. Zellen, die mit sehr hoher Avidität an selbst-MHC binden, werden negativ selektioniert. Dadurch wird verhindert, dass autoreaktive T-Zellen ausreifen und in die Peripherie gelangen, wo sie Autoimmunreaktionen auslösen könnten.

Die AIRE sind offensichtlich essentiell für die erfolgreiche Elimination autoreaktiver Thymozyten. Bei den sehr seltenen genetischen Defekten des AIRE-Gens kommt es zu schweren autoimmunen polyglandulären Syndromen mit Autoantiköperbildung in endokrinen Organen (APS; Autoimmunes polyglanduläres Syndrom).

Die Selektion nicht-reaktiver Thymozyten wird als „*zentrale Toleranz*" bezeichnet.

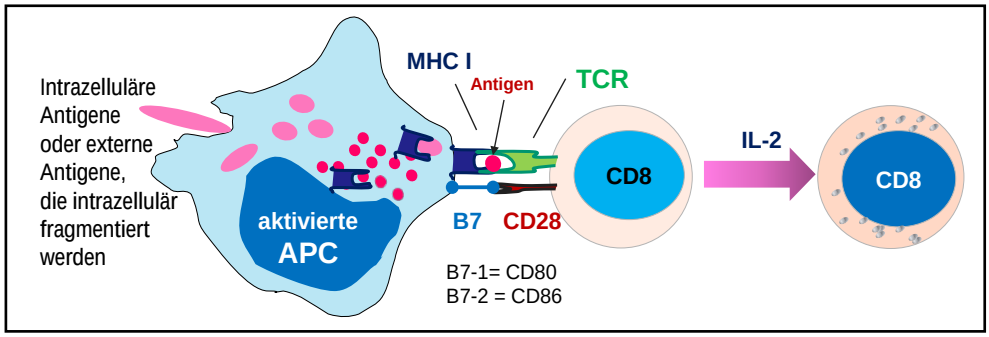
Schließlich entwickeln sich aus den CD4CD8-Thymozyten, die die Selektionierung passieren, über Kontakt mit intrathymischen MHC I-Molekülen einfach positive CD8-T-Zellen und über MHC II-Interaktion die CD4-T-Zellen, die vom Thymus in die Blutbahn auswandern.

T-Zellaktivierung

T-Zellen werden durch Interaktion ihres TCR mit Antigenen aktiviert (Bonilla, 2010). Im Unterschied zu den B-Zellen, deren Antigenrezeptoren (membranständige Immunglobuline) *nach* Antigeninteraktion durch Genrearrangement spezifische Qualität erlangen, werden im Falle der T-Zellen diejenigen involviert, deren TCR strukturell am besten zum Antigenpeptid passen. CD8-Zellen können Antigenpeptide in der Größe von 9-11 Aminosäuren im Komplex mit MHC I-Molekülen binden. Alle kernhaltigen Körperzellen exprimieren MHC-Komplexe der Klasse I (HLA-A, HLA-B, HLA-C). MHC I werden im Golgi-Apparat der Körperzellen mit Antigenpeptiden komplexiert, die in aller Regel aus intrazellulären Proteinen hervorgehen; entweder aus körpereigenen Proteinen oder aus Fremdpeptiden, die von intrazellulären Viren oder Bakterien gebildet werden. Auch endogene Peptide, die durch chemische Modifikation zu „Fremd"antigenen werden, können ev. die CD8-Aktivierung auslösen, kommen jedoch viel eher für die CD4-Aktivierung von außen in Betracht.

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Abb 1: Antigen-Aktivierung der CD8-Zelle über MHC I-gebundene Peptide intrazellulärer Antigene.



Im Unterschied dazu werden CD4-Zellen durch MHC II-gebundene Antigene aktiviert. MHC II Moleküle (HLA DR, HLA-DQ, HLA-DP) werden von wesentlich weniger Zelltypen exprimiert, in erster Linie durch die klassischen sog. APC (Antigen-präsentierende Zellen).

APC's sind die Anlaufstellen für Fremdantigene, die sie über Rezeptoren geringer Spezifität auffangen, internalisieren und abbauen können. Diese gruppenspezifischen, sog. „Pattern-Recognition"-Rezeptoren (PPR), zu denen vor allem die „Toll-like" Rezeptoren (TLR) gehören, können gerade auf Grund ihrer geringen Spezifität unterschiedlichste Infektionserreger, Nahrungsmittel-, Umweltantigene oder Allergene binden.

Außer den TLR's sind heute weitere PPR-Klassen bekannt: die RLR's (Retinoic acid inducible gene I-like receptors), die NLR's (Nucleotide oligomerization and binding domain-like receptors) und die PYHIN-Rezeptoren.

Die APC's finden sich konsequenterweise in großer Zahl vor allem auf Körperoberflächen wie Haut, Lunge und Magendarmtrakt, wo sie nach Interaktion mit Fremdantigenen in regionale Lymphknoten auswandern, dort mit T-Zellen interagieren und die Immunantwort initialisieren.

Die Bindung von Antigen-MHC-Komplexen an den TCR-Komplex generiert eine sog. „Immunsynapse", die durch CD4- (CD4-Zellen) bzw. CD8-Moleküle (CD8-Zellen) zusätzlich stabilisiert wird. Damit wird die intrazelluläre Aktivierungskaskade der T-Zellen eingeleitet bis schließlich die nukleären Transkriptionsfaktoren NF-kB, NFAT oder AP-1 die Expression von Zytokin-Genen und Wachstumsfaktoren induzieren und die Proliferation der T-Zellen vorantreiben.

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

T-Zellen benötigen für eine vollständige Aktivierung allerdings zwei Signale (Frauwirth, 2002). Ohne entsprechende ko-stimulatorische Signale kommt es nicht zur vollen Aktivierung mit Proliferation und oder Mediatorsekretion. Die Antigen-Interaktion ohne Zweitsignal endet in Anergie. Analog führt auch die alleinige CD28-B7-Bindung ohne Antigenbindung nicht zur Aktivierung.

Signal 1 ist die Interaktion des TCR-Komplexes mit HLA-komplexierten Antigenpeptiden auf der Oberfläche von APC's. Im Falle der CD4-Zellen sind die Antigene an HLA II gebunden, bei CD8-Zellen an HLA I-Moleküle.

Signal 2 ist ein kostimulatorisches Signal, das meist durch den CD28-Rezeptor auf der T-Zelle generiert wird, der mit dem B7-Liganden auf den APC reagiert; CD80 (B7.1) bzw. CD86 (B7.2) auf B-Zellen, dendritischen Zellen oder und Monozyten. Durch die CD28-B7-Bindung wird ein weiteres Signal aktiviert, der Ligand CD40L auf der T-Zelle, der mit CD40 auf der APC reagiert und dabei die B7-Expression verstärkt und eine positive Feedbackschleife etabliert.

Sog. „professionelle APC's" wie dendritische Zellen, B-Zellen oder Monozyten/Makrophagen exprimieren die kostimulatorischen Liganden in hoher Intensität, während viele andere, „nicht-professionelle" Zellen wie z.B. epitheliale Zellen, im Normalfall keine volle Aktivierung ermöglichen, im Verlauf von entzündlichen Prozessen jedoch über Zytokinstimulation zu verstärkter Kofaktorexpression kommen können.

Die Notwendigkeit der Zwei-Signalaktion wird heute auch therapeutisch bei Autoimmunerkrankungen genutzt, z.B. mit Abatacept bei RA, das durch inhibitorische Bindung an B7 kostimulatorische Signale blockiert.

Bei anhaltender T-Zellaktivierung werden vermehrt strukturell CD28-verwandte, jedoch inhibitorisch wirkende Moleküle wie PD-1 oder CTL-4 auf der T-Zelle exprimiert. Sie reagieren gleichermaßen mit den B7-Liganden auf APC und bewirken wachsende Funktionseinbuße der T-Zellen bis zur völligen Anergie („T cell exhaustion"). Beginnend mit verstärkter Apoptose nimmt die Proliferationsfähigkeit und mit ihr die Bildung von IL-2 ab, bis auch effektorische Zytokine wie IFNγ oder TNFα nicht mehr produziert werden (Wherry, 2011). Die Koexpression dieser inhibitorischen Signale schon während der Aktivierungsphase trägt dazu bei, die Aktivität der T-Zellen zu balancieren und Autoreaktivität zu supprimieren.

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Die Notwendigkeit des kostimulatorischen Signals für die Immunaktivierung ist herausragend wichtig für die *periphere* Toleranz. In vielen immunprivilegierten Organen werden keine kostimulatorischen Liganden exprimiert, es kann jedoch im Verlauf von Entzündungen zur Expression von kostimulatorischen Liganden auch auf nicht-professionellen Zellen kommen und dadurch Autoimmunität initiiert werden. Auch die limitierte Expression der inhibitorischen Liganden wie PD-1 oder CTL-4 trägt dazu bei, die periphere Immunaktivität zu kontrollieren.

Bystander-Aktivierung

Die T-Zellaktivierung kann allerdings auch Antigen-unabhängig (ohne TCR-Beteiligung) durch Zytokine erfolgen (Bovman, 2010). Durch IL-2 können unter Beteiligung anderer Zytokine (IL-12 und IL-18) insbesondere sog. Effektor-Memoryzellen der CD8-Reihe zu inflammatorischer Aktivität stimuliert und ihre zytotoxische Aktivität (IFNγ) gesteigert werden. (Bystander-Effekt), was insbesondere für chronisch-inflammatorische Prozesse von Bedeutung ist.

Bei Autoimmunerkrankungen ist die Konzentration von effektorischen Memoryzellen im Gewebe besonders hoch.

Die Hauptbedeutung des Bystander-Effektes liegt jedoch in der Beschleunigung der Immunreaktion auf Pathogene, da vorhandene Memoryzellen durch Bystander-induktion von IFNγ und Granzym B zur apoptotischen Elimination von Neupathogenen führen können, bevor die adaptive Immunreaktion in Gang gekommen ist (Chu, 2013).

CD4-Memory

Zum Abschluss jeder Immunintervention wird der hochgradig (bis zu 100-fach) expandierte Pool der Antigen-reaktiven T-Zellen wieder auf normale Zellzahlen reduziert. Für die CD8-Zellen ist eingehend untersucht, dass etwa 5% als langlebige *Memory*-Zellen persistieren während der große Überschuss von 95% durch Apoptose eliminiert wird.

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Das CD4-Gedächtnis ist weniger untersucht, jedoch analog konzipiert. Für den Übergang vom primären, aktiven in den Memory-Status sind bestimmte Zytokine und die Eigenschaften der Immunsynapse wichtig. Sowohl CD8- als auch CD4-Zellen benötigen für das Überleben als Memory-Zellen das Zytokin IL-15. Für die CD4-Zellen scheint darüber hinaus IL-7 überlebenswichtig.

Je intensiver die Antigeninteraktion der T-Zellen war, je stärker das von der Antigen-TCR-Bindung ausgehende Aktivierungssignal war, desto höher die Überlebenswahrscheinlichkeit. Memory-Zellen werden leichter aktiviert als naive T-Zellen, benötigen weniger kostimulatorische Unterstützung und haben gesteigertes effektorisches Potential, ihre Proliferationsfähigkeit ist dagegen reduziert.

Naive T-Zellen sind phänotypisch durch das Antigen CD45RA charakterisiert, das in Memory-Zellen zu CD45R0 umstrukturiert wird. Im Memory-Pool der CD8- und ebenso der CD4-Zellen werden zwei distinkte Zellpopulationen unterschieden: die zentralen Memoryzellen (T_{CM}), die neben CD45R0 auch CD62L (Selectin) und den Chemokinrezeptor CCR7 exprimieren, während die effektorischen Memoryzellen (T_{EM}) CD62L- und CCR7-negativ sind. Sie sind stärker Zytokin-aktiv und sezernieren IFNγ, IL-4 und IL-5.

T-Zellpopulationen

Auch wenn die im Thymus ablaufende Reifung und Aktivierung aller T-Zellen einem identischen Muster folgt, unterscheiden sich die aktivierten Zellen absolut in ihren Effektorfunktionen. Sie können als Helferzellen fungieren und durch Kontakt oder Zytokine B- und T-Zellen steuern, Monozyten/Makophagen aktivieren, die Immunantwort regulieren, überschießende Entzündungsreaktionen blockieren und Autoimmunität verhindern. Die größte T-Zellpopulation sind die CD4-Zellen mit αβTCR, von denen die meisten Helferzellfunktion besitzen und als Th-Zellen bezeichnet werden.

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Th1-Th2

Die Th-Zellen produzieren ein umfangreiches Spektrum von Zytokinen, allerdings in unterschiedlicher Spezialisierung. Erst vor ca. 25 Jahren wurde die klonale Spezialisierung der Th-Zellen entdeckt (Mosmann, 1986). Anhand ihres unterschiedlichen Zytokinmusters wurden die spezialisierten Th1- und Th2- Zellen identifiziert.

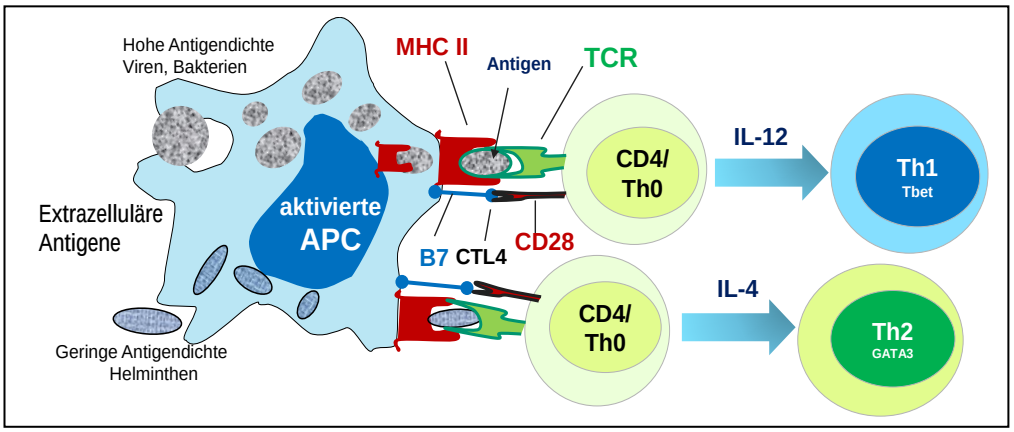
Th1-Zellen zeigten die Fähigkeit der Produktion von Interleukin-2 (IL-2) und Interferon-gamma (IFNg), Th2-Zellen produzieren dagegen IL-4, IL-5, IL10 und IL-13. Beide, Th1- und Th2-Zellen, spezialisieren sich nach Antigenkontakt aus den sog. „naiven“ Th0-Zellen, reifen T-Zellen, die aus dem Thymus ausgewandert sind und noch keinen Antigenkontakt hatten.

Treibende Kraft der Differenzierung sind bestimmte Zytokine, die von den aktivierten APC nach Antigenkontakt sezerniert werden. Das Sekretionsmuster der APC hängt von der Art der Antigene, der Antigenkonzentration und weiteren lokalen und systemischen Faktoren ab.

Unter dem Einfluss von IL-12 und auch IFNγ reifen die Th0-Zellen zu Th1-Zellen aus, wobei der Signal Transducer und Transkriptionsaktivator Stat4 phosphoryliert wird. Sie produzieren vor allem IFNγ und IL-2 unter dem Einfluss des zellulären Transkriptionsfaktors Tbet.

Dagegen ist IL-4 die treibende Kraft bei der Spezialisierung der Th2-Zellen, wobei der Faktor Stat6 maßgeblich ist. Th2-Zellen produzieren L-4, IL-5, IL-10, IL-13 unter Mitwirkung des zellulären Transkriptionsfaktors GATA-3.

Abb. 2: Th1-Th2 – Differenzierung



© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Die Kräfte, die für die unterschiedliche Polarisierung der Th-Zellen verantwortlich sind, wurden lange kontrovers diskutiert. Inzwischen gilt als gesichert, dass die unterschiedlichen Eigenschaften der Antigene selbst ausschlaggebend sind, ob es zur Th1- oder Th2-Differenzierung kommt. Auf diesem Wege kann sich die adaptive Immunabwehr optimal auf die Antigen-Herausforderung einstellen und die Immunantwort orchestrieren, indem sie die Aktivierung der B-Zellen, das Shaping der Immunglobulingene und den Class-Switch der Ig-Antikörper unterstützen, die CD8-Zellen (IL-2, IFNγ) und retrograd die native Immunabwehr (Monozyten/Makrophagen, dendritische Zellen) stimulieren.

Die Eigenschaften des Antigens diktieren also, ob die involvierten APC's - in erster Linie die hochreaktiven dendritischen Zellen - IL-4 oder IL-12 produzieren. Die Effizienz der Spezialisierung wird dadurch gefördert, dass IL-4 die Sekretion von IL-12 und IFNg hemmt und umgekehrt IL-12 die IL-4 Sekretion. Dazu kommt, dass die Leitzytokine wie IL-2, IL4 oder IFNg die Expression ihrer Rezeptoren auf den betreffenden Th-Zellen induzieren und so die Th1/Th2-Spezialisierung und –Aktivierung exponentiell verstärken. IL-10 ist allerdings nicht Th2-spezifisch, es kann von allen Immunzellen produziert werden.

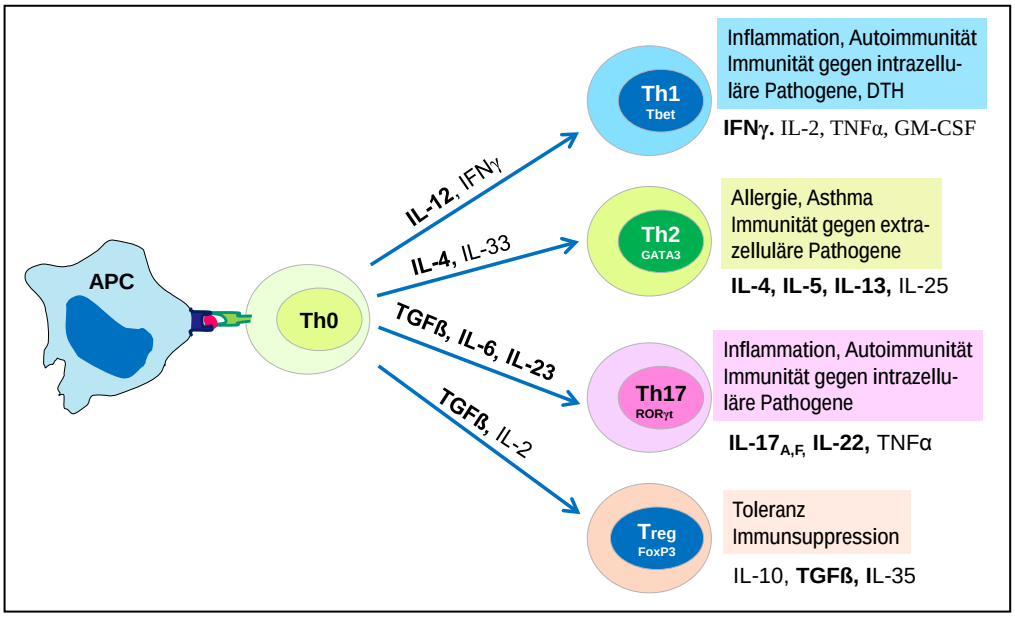
Th1-Zellen sind verantwortlich für die zelluläre Immunantwort, ihre Zytokine (IFNγ, IL-2) aktivieren Makophagen, natürliche Killerzellen (NKZ) und zytotoxische T-Zellen (CTL) für die Abwehr und Abtötung von intrazellulären Infektionserregern, Virus-infizierten Zellen und alterierten Körperzellen. Sie haben herausragendes pro-entzündliches Potential, was im ungünstigen Falle allerdings auch Autoimmunität und Allergien unterstützen kann. Sie sind verantwortlich für die allergisch/inflammatorischen Reaktionen von verzögerten Typ (Typ IV-Reaktionen oder DTH/*Delayed Typ Hypersensitivity*), zu denen praktisch alle Schadstoffe gehören, die als Haptene für zelluläre Carrierproteine zu intrazellulären Antigenen werden können: z.B. Schwermetalle wie Nickel oder Quecksilber, anorganische/organische Chemikalien wie Methacrylate, Medikamente (Schreiber, 2009).

Die Th2-Zytokine aktivieren die humorale Immunabwehr, induzieren die Produktion von Antikörpern, die Proliferation von eosinophilen Leukozyten und die Immunantwort gegen Darmparasiten. IL-4 kontrolliert den Ig-Switch zu IgG1 und IgE und hemmt die Bildung von IgM, IgG2 und IgG3, während IFNγ die Produktion von IgG2 stimuliert und umgekehrt IgG1, IgG3 und IgE hemmt. Im Laufe der Zeit ist klar geworden, dass die funktionelle Th1/Th2-Polarisierung nicht absolut ist, sondern

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

dass z.B. Th2-Zellen unter bestimmten Umständen auch IFNg produzieren können oder Th1-Zellen auch Th2-Funktionen akquirieren können.

Abb. 3: Die "klassischen" vier Th-Subpopulationen mit den Zytokinen, die ihre Entwicklung aus der CD4/Th0-Zelle steuern, ihren sekretorischen Produkten und ihren wichtigsten Funktionen.



TH17-Zellen

Die Immunantwort wurde lange als Yin-Yang-Paradigma betrachtet und entweder dem Th1– oder dem Th2-Muster zugeordnet. Dieses einfache, attraktive Model hat zunehmend Risse bekommen. Es hat sich gezeigt, dass nicht alle CD4-basierten Immunreaktionen Th1- oder Th2-Funktionen zuzuordnen sind. In den letzten Jahren wurden mehrere neue Th-Zellpopulationen gefunden.

An erster Stelle die Th17-Zellen (Bettelli, 2008), die durch IL-6 und TGFß induziert werden. Sie exprimieren den Transkripriorsfaktor Roryt und produzieren die Zytokine der IL-17-Gruppe: IL-17_{A-F} und IL-25 ($IL17_E$), die hohes proinflammatorisches Potential besitzen und besonders bei Autoimmunreaktionen beteiligt sind. Th17-Zellen sind außerdem von Bedeutung bei chronisch allergischen Entzündungen wie Asthma. Andererseits sind sie unerlässlich bei der Infektionsabwehr, da sie die initiale Aktivierung massiv unterstützen. IL-1 hat herausragendes proentzündliches Potential Es stimuliert die Produktion der proentzündlichen Zytokine TNFalpha, IL-1ß und IL-6; Chemokine wie IL-8; die

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Produktion von Prostaglandinen, Stickoxid und entzündlichen Metalloproteinasen, die zur Gewebedestruktion beitragen.

Regulatorische T-Zellen

Bis heute ist für viele die Suppressorzelle, die die Immunantwort hemmend kontrolliert und aktivierte Immunzellen in den Ruhezustand zurückführt, noch lebendig. Ihre Rolle wurde lange den CD8-Zellen zugedacht, von denen man heute jedoch weiß, dass sie die zytotoxischen T-Zellen (CTL), die Effektorzellen der zellulären Immunabwehr sind. Die klassische „Suppressorzelle“ gibt es also nicht mehr.

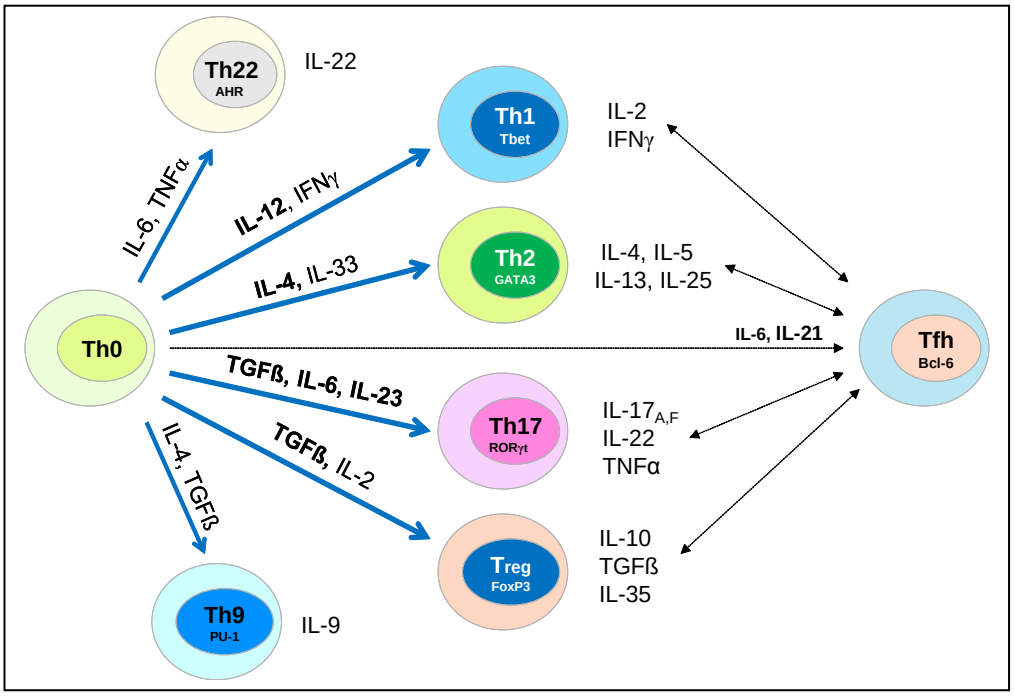
Erst 1995 (Sakaguchi) wurde dann die eigentliche immunsuppressive Zelle entdeckt. Sakaguchi wies nach, dass CD4-Zellen mit hoher CD25-Expression (CD25, α-Kette des IL-2 Rezeptors) immunregulatorische Effekte haben. Die sog. „regulatorischen T-Zellen“ (Treg) sind unverzichtbar für die Kontrolle der zellulären Immunaktivität, die Hemmung von Autoimmunität und Allergien und damit essentiell für die *periphere* Toleranz. Treg differenzieren sich aus CD4-Zellen unter dem wesentlichen Einfluss des Zytokins TGFß, verstärkt durch IL-2. Sie exprimieren außer $CD25^{++}$ typischerweise $CD127^{low}$ (α-Kette IL-7 Rezeptor) schwach und sind spezifisch durch den intrazellulären transkriptionellen Repressor FoxP3 charakterisiert.

Neben den Thymus-abhängigen, sog. natürlichen nTreg können auch naive T-Zellen in der Peripherie zu immunsuppressiven „induzierten“ iTreg ausreifen. Beide Treg-Populationen produzieren die inhibitorischen Zytokine IL-10 und TGFß und exprimieren FoxP3. Bei hoher FoxP3-Expression dominieren die immunsuppressiven Eigenschaften der Treg, bei fehlender Expression entsteht Autoimmunität. Sie hemmen die Aktivierung, Zytokinproduktion und Proliferation der T-Zellen und Makrophagen und deaktivieren proliferierende, aktive T-Zellen. Sie können im Überschuss allerdings auch die effiziente Immunantwort bei Tumoren und Viruserkrankungen blockieren.

Die Diversifizierung der CD4-Zellen ist inzwischen noch weiter getrieben worden: an erster Stelle die IL-9 produzierenden Th9-Zellen und seit kurzem die IL-22 produzierenden CD22-Zellen. Vor allem aber die follikulären T-Helferzellen (Tfh-Zellen), die naive und Memory-B-Zellen aktivieren (O’Shea, 2010). Die Tfh stehen funktionell zwischen Th1- und Th2-Zellen und können je nach Antigen Th1- oder Th2-Zytokine produzieren.

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Abb. 4: Komplettes Muster der CD4-Zellen mit den pluripotenten Tfh-Zellen, die ihrerseits in Th-Untergruppen differenzieren können und umgekehrt.



Das Bild wird weiter kompliziert, da der bisher unterstellte terminale Charakter der jeweiligen CD4-Subpopulationen auch in anderen Fällen relativiert wird. IL-10 kann z.B. situationsabhängig von allen CD4-Populationen gebildet werden. Th1-Zellen können in der terminalen Phase der Aktivierung zunehmend IL-10 produzieren und Antigen-abhängig IL-13 bilden. TH17-Zellen können häufig außer IL-17 auch IFNg produzieren und TH17-Zellen, die statt IL-17 IL-22 oder simultan IL-17 und IL-22 bilden, wurden erst kürzlich gefunden. IL-4 produzierende Th2-Zellen können antigenabhängig auch IFNg sezernieren

Die Plastizität des CD4-Zellpools ist also weit größer als noch vor kurzem angenommen! Was aber bleibt ist, dass das Antigen die Charakteristik der T-Zellantwort bestimmt.

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

γδT-Zellen

Eine zahlenmäßig erheblich kleinere Unterfraktion der T-Zellen sind die schon erwähnten γδ-T-Zellen, die den γδ-TCR exprimieren und in der Regel CD4- und CD8-negativ sind. In den meisten Geweben machen sie weniger als 5% der Lymphozyten aus, dominieren jedoch in der gastrointestinalen Mukosa.

Im Unterschied zu αβT-Zellen reagieren γδT-Zellen mit Antigenen, die nicht über MHC I oder MHC II, sondern über sog. nicht-klassische MHC-Moleküle der CD1-Rezeptorfamilie präsentiert werden. γδT-Zellen können nicht nur Peptidantigene sondern zusätzlich auch nicht-Peptidantigene wie mykobakterielle Glykolipide, Phospholipide oder Alkylamine „erkennen“ und sind daher prädestiniert für die Aktion gegenüber intestinalen Bakterien, Viren, Pilzen, Parasiten oder Protein- und Nonprotein-Nahrungsmittel-Antigenen.

Mit ihnen verwandt sind die NKT-Zellen (Natural-Killer-T-Zellen), die ebenfalls über CD1-Molküle Protein- und Nonprotein-Antigen erkennen können. NKT-Zellen exprimieren sowohl T-Zell-Moleküle (CD3, αβTCR) als auch NK-Zellmoleküle CD56).Aktivierte NKT-Zellen produzieren IL-4 und sind bei allergischen Reaktionen beteiligt.

Autoimmunität

Autoimmunerkrankungen entstehen, wenn die zentrale oder periphere Toleranz durchbrochen wird (Zandmann-Goddard, 2007). Häufig ist genetische Disposition vorhanden, wie das gehäufte familiäre Auftreten vieler Autoimmunerkrankungen zeigt. Das individuelle HLA I- und II-Muster ist mit ausschlaggebend (Gregersen, 2006). Die Peptidsequenz eines potentiellen Selbstantigens muss zur räumlichen Konformation eines individuellen HLA-Moleküls „passen“. Das bedeutet, dass viele Autoimmunerkrankungen bevorzugt bei Personen mit passendem HLA-Muster auftreten. Das Risiko einer Erkrankung ist bei Vorliegen der relevanten HLA-Merkmale bis zu 80 fach erhöht.

Die meisten HLA-assoziierten Erkrankungen sind der HLA-Klasse II (HLA DR/DP/DQ) zuzuordnen, Beispiel rheumatoide Arthritis, Diabetes Typ I (s. Liste). HLA I-Abhängigkeit (HLA A/B/C) ist seltener, Beispiel M. Bechterew.

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Heute sind außer HLA viele andere genetische Risikofaktoren bekannt, die das Auftreten von Autoimmunerkrankungen begünstigen. Es sind Risikofaktoren, d.h. ihr Vorhandensein allein reicht nicht aus, eine Autoimmunkrankheit auszulösen. Nur wenn geeignete exogene Faktoren hinzukommen, entwickelt sich Autoimmunität.

Ein Beispiel ist Morbus Crohn, bei dem ein Polymorphismus des NOD2-Rezeptorgens primär ätiologisch relevant ist. Durch die NOD-Mutation wird die Auseinandersetzung mit intestinalen Infektionserregern gestört. Daneben sind inzwischen 35 weitere Risiko-Gene bekannt, wie z.B. der IL-23 Rezeptor, die insgesamt jedoch nicht mehr als 20% des genetischen Impact bei M Crohn erklären (Schreiber, 2005). Die gleichen Gene sind interessanterweise teilweise auch bei chronisch entzündlichen Krankheiten beteiligt, wie z.B. NOD2 beim Asthma bronchiale. Es bedeutet, dass die Unterscheidung von Autoimmunerkrankungen und chronisch-entzündlichen Krankheiten nicht mehr so klar ist wie es früher schien.

Tabelle: HLA-Assoziation von Autoimmunerkrankungen

Krankheit	**HLA-Assoziation**	**Relatives Risiko**
Rheumatoide Arthritis	DR1, DR4	8
Multiple Sklerose	DR2, DQ6	20
Diabetes Typ I	DR3, DR4	15
SLE/Lupus erythematodes	DR2, DR3	20
M. Bechterew	B27	87,4
Narkolepsie	DRB1*15/DQB1*06:02	129,8
Psoriasis vulgaris	Cw6	33
Morbus Basedow	DR3	15
Postinfektiöse Arthritis	B27	40,0
AGS late-onset	B14	48,5
Autoimmunhepatitis	DR3	4,5
Gold-induzierte Nephritis	B8, DR3	15,0
Morbus Addison	DR3	6,3
Coeliakie	DR3/DR7/DQ2/DQ8	52

Außer den genetischen Risiken für Autoimmunität spielen chronische Infektionen (Immunaktivierung), chronischer Stress (Cortisol-Defizit), geschlechtsspezifische (Östrogene), hormonelle (Steroide, Vitamin D, Melatonin) und Umweltfaktoren (z.B. Estrogendisruptoren, Schadstoffe) eine wesentliche Rolle.

Frauen sind von Autoimmunerkrankungen generell 3 - 9 fach häufiger betroffen als Männer. Konzentrationsabhängig hemmen Östrogene (hohe) oder steigern sie (niedrige Konzentration) inflammatorische Aktivität (Pierdominici, 2013) und stimulieren B-Zellaktivitäten.

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Vitamin D zeigt starkes Potential in der Immunregulation, hemmt überschießende Aktivität und ist besonders wertvoll in der Suppression von Autoimmunität (Cutolo, 2009, Yang, 2013).

Für die Manifestation von Autoimmunerkrankungen sind offensichtlich Infektionen, vor allem Virusinfektionen, von besonderer Bedeutung. Vor allem das Epstein-Barr-Virus wird mit verschiedenen Autoimmunerkrankungen wie Multipler Sklerose, Rheumatoider Arthritis oder SLE ursächlich in Verbindung gebracht (Niller, 2008).

Mehrere Mechanismen werden diskutiert:

„Molecular Mimicry“: Virale/bakterielle Antigene zeigen strukturelle Homologie zu körpereigenen Antigenen. Virus-reaktive T-Zellen können mit ihnen kreuzreagieren und Autoimmunität auslösen.

„Bystander-Reaktion“: Die Infektion aktiviert auch autoreaktive T-Zellen, die zur Entzündung führen.

Im Verlauf der Erkrankung entstehen Neoantigene, die autoreaktiv wirken.

Die Induktion von Autoimmunität durch Infektionserreger wird durch die relativ unkritischen, gruppenspezifischen PRR‘s begünstigt, die außer exogenen auch endogene Liganden erkennen können und die Entzündungsreaktion aktivieren. PRR-Aktivierung kann die suppressive Wirkung von regulativen T-Zellen blockieren.

Allergie

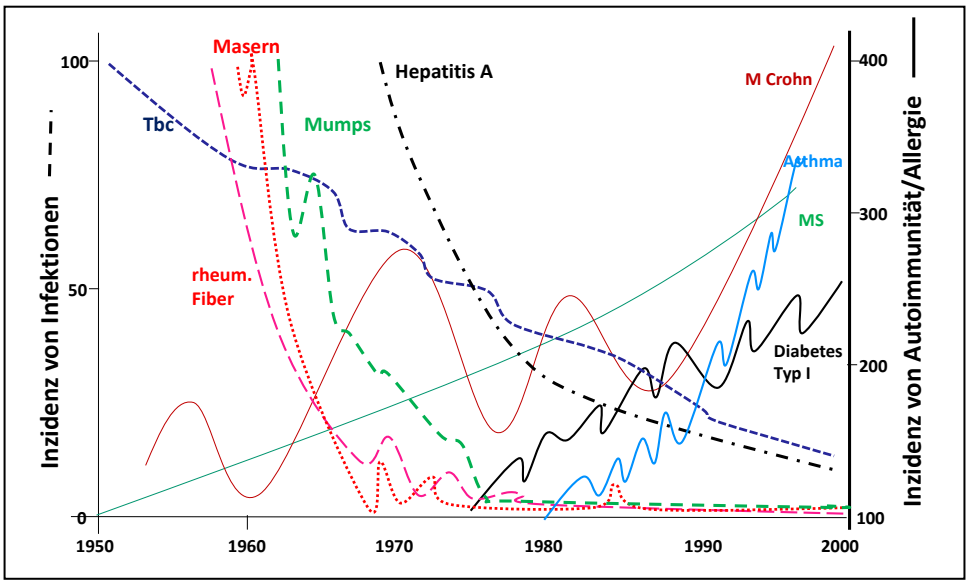
Auch für das Auftreten von Allergien sind genetisch disponierende Faktoren wichtig. Dazu gehören die Präsenz bestimmter HLA-Antigene, Polymorphismen von IL-4, CD14 und dem Treg-Transducer FoxP3 (Grammatikos 2008; Frischmeyer-Guerrerio, 2013).

Neben der genetischen Disposition sind frühe Allergenexposition, Impfungen, Antibiotika in den ersten Lebensjahren, die Geschwisterzahl, die Art der Antigen/ Allergene, die Ernährung, Schadstoffe (Zigaretten) und exzessive Hygiene relevant.

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Darüber hinaus ist die Auseinandersetzung mit Infektionen sowohl für Autoimmunität als auch für Allergien wichtig (Bach 2002; Kamrath, 2005). Infektionen können protektiv wirken, aber auch das Allergierisiko erhöhen. Nach der viel diskutierten „Hygiene-Hypothese“ treten Allergien bei hoher Pathogenexposition seltener auf als in sterilerem Milieu. Tatsächlich hat sich innerhalb einer Generation die Inzidenz sowohl von Autoimmunerkrankungen als auch von Allergien vervielfacht während parallel dazu Infektionen abgenommen haben.

Abb 5: Inverse Relation zwischen Infektionskrankheiten und Allergie/Autoimmunität (nach Bach, 2002).



Allergien kommen durch die Reaktion von Th2-Zellen auf Umweltantigene zustande. Die Th2-Zytokine IL-4, IL-5, IL-9 und IL-13 induzieren eosinophile Zellen (Eosinophilie), die Produktion von Allergen-spezifischem IgE durch B-Zellen, die Kontraktion von glatter Muskulatur und die Hyperreaktivität und Schleimproduktion von Bronchialepithelien bis zur chronisch- allergischen Entzündung, bei der auch Th1-Zellen beteiligt sind (Asthma).

Infektionen mit Pathogenen, die starke Th1-Reaktionen induzieren (z.B. Mykobakterien) wirken besonders präventiv, da IFNγ die Th2-Entwicklung blockiert. Frühe BCG-Impfung reduziert das Autoimmunitäts-und Allergierisiko. Intrazelluläre Bakterien wie Chlamydia trachomatis oder Listerien wirken ebenfalls protektiv, virale Infektionen wie Influenza A, RSV, Hepatitis A ebenfalls.

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Außer den Th1-Einflüssen sind offensichtlich auch TGFß und IL-10 (Treg's) sehr wichtig für die Allergieprävention. Dazu gehört, dass auch die probiotische Stärkung der intestinalen Flora zum Allergieschutz beiträgt, was sowohl für Lactobacillus rhamnosus als auch für Bifidobacterium lactis bei Kindern gezeigt wurde.

Andererseits können Infektionen allergische Reaktionen induzieren oder verstärken. RSV, Influenza oder Hepatitis A-Virus können außer protektiv (geringe Antigendichte bzw. Infektion in frühen Jahren) in hoher Konzentration auch allergiefördernd wirken. Ebenso Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae, Bordetella pertussis oder Staphylokokkus aureus.

Schließlich verstärken die TH2-induktiven Helminthen das Atopierisiko. Mindestens so wichtig wie die Th1:Th2-Balance scheinen jedoch die Tregs's mit ihren immunsuppressiven Wirkungen (TGFß. IL-10) zu sein. Neuerdings wird außerdem zunehmend klar, dass es bei Beteiligung von Th17-Zellen zu verstärkter Autoimmunität und Allergien kommt.

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Diagnostik

Da die immunologischen Reaktionen über die Blutbahn verbreitet werden, sind die im Blut zirkulierenden T-Zellen grundsätzlich gut für die Diagnostik geeignet. Deren Aktivitätsprofil kann über die Zelltypisierung im Durchflusszytometrie, funktionelle Analysen und vor allem die Bestimmung der aktuellen Zytokinmatrix, die Zelltyp und Funktionszustand erkennen lässt, bestimmt werden.

Laser-Durchflusszytometrie

T-Zellen können auf Basis von spezifischen Oberflächenmerkmalen in der Flow-zytometrie mit markierten monoklonalen Antikörpern gegen die betreffenden Merkmale charakterisiert werden. Dies gelingt jedoch nur begrenzt, da die CD4-Subpopulationen keine spezifischen Oberflächenmarker aufweisen. Alle T-Zellen sind durch das Merkmal CD3 charakterisiert. Dazu kommt CD8 für die cytotoxischen T-Zellen und CD4 für alle Th/Helferzellen.

Die Subpopulationen der Th-Zellen können nur über die Markierung spezifischer intrazellulärer Merkmale eindeutig bestimmt werden. Dazu zählen die Subtyp-spezifischen Zytokine wie IFNγ, IL-4, IL-17, IL-9, IL-22 oder die Transducermoleküle Tbet, GATA3, RORγt, FoxP3. Für die Routinediagnostik sind diese Verfahren wegen des hohen Aufwandes kaum geeignet.

Für die Funktionsanalyse bietet die Flowzytometrie dagegen gute Voraussetzungen: naive/Memoryzellen – CD45RA/RO bzw. $CD62L^{+/-}$; aktivierte CD4-Zellen – HLADR, CD25, CD38, CD69, CD71; Kofaktorexpression – CD28, CD80/CD86, PD-1, CTL-4;

Zytokine im Serum

Die Messung von Zytokinen im Blut selbst ist nur in engen Grenzen anwendbar, da entweder die Konzentration des betreffenden Zytokins im Blut zu gering ist oder, wie in den meisten Fällen, die Plasmahalbwertzeit sehr kurz ist. Folgende Zytokine sind im Blut gut messbar: IL-6, TNFα, IL-8, IL-10, TGFß. Einige Zytokine können indirekt auch über ihren löslichen Rezeptor gemessen werden, der bei Zytokinbindung an den betreffenden Rezeptor teilweise in Lösung geht und oft längere Plasmahalbwertzeit aufweist: sIL2r (soluble IL2 receptor), sTNFrI und sTNFrII (TNFα), sIL6r. IFNγ kann indirektüber das länger zirkulierende, IFNγ-abhängige Chemokin IP-10 gemessen werden.

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Zytokin-Assay in-vitro

Geeignete Verfahren für die Subanalyse der Th-Populationen sind Techniken, bei denen das Sekretionsprofil der T-Zell-typischen Zytokine in-vitro analysiert wird. Entweder Messung der Zytokinsekretion auf Einzelzellniveau mit dem sog. Elispot-Assay (Minang, 2008) oder Gruppenniveau mit der Zytokinanalyse im Kulturüberstand (Zytokin-LTT) nach 1-2 Tagen in-vitro Inkubation der Patientenzellen.

Durch die Wahl des in-vitro Stimulans können die Bedingungen der Zellananalyse modifiziert und die Eigenschaften der jeweiligen Subpopulationen gezielt getestet werden (Mitogene, Virus- oder Bakterienantigene, spezifische Peptide).

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Orthomolekulare Therapieoptionen

AHCC (Active Hexose Correlated Compound) ist ein Pilzextrakt (Basidiomycetes). Die immunologischen Effekte scheinen sich auf die Steigerung der dendritischen Zellkonzentration und die Antigenpräsentation zu beschränken. Weder die Proliferation oder die Zytokinsekretion von T-Zellen noch die Zytotoxizität von NK-Zellen werden bei Gesunden verändert. Bei Tumorpatienten wird sowohl die T_H1-Zellaktivität (IL-12, IFNγ) als auch die NK-Zytotoxizität verbessert.

Cimetidin ist ein Histaminrezeptor/H2-Antagonist. Durch Blockade von H2-Rezeptoren u.a. auf dendritischen Zellen, T-Zellen und NK-Zellen erhöht es den Gesamt-Lymphozytenpool, stimuliert die IL12-Sekretion und die Th1-Differenzierung, hemmt die Treg-Aktivität und blockiert IL-10 und TGFß (Wang, 2008). Durch diese Effekte verbessert Cimetidin wirksam die antibakterielle und antivirale Immunität und die Antitumor-Immunität. Darüber hinaus hemmt es die Metastasierung von Tumoren durch Blockade der Angiogenese und Stimulation Antigen-spezifischer T-Zellen (TIL = Tumor-infiltrierende Lymphozyten).

Glutathion (GSH) hat auch für die Immunabwehr besondere Bedeutung. Die Synthese der ζ-Komponente des TCR wird bei GSH-Mangel blockiert, die T-Zellrezeptorfunktion ist beeinträchtigt. Bei GSH-Mangel kommt es zum Funktionsshift vom Th1- zum Th2-Typ, Durch orale Gabe der GSH-Vorstufe Cystein (*N-Acetylcystein)* kann GSH intrazellulär aufgebaut werden, während das GSH selbst als Tripeptid nicht ins Zellinnere gelangt.

Losartan gehört zu den AT1-Antagonisten (Antihypertensiva). Es hat ausgeprägte immunmodulierende Wirkung hemmt TGFß (Treg) und steigert die Effektoraktivität der T-Zellen (Chaudan et al., 2013).

MGN-3 (Biobran; Arabinoxylan aus Reiskleie) hat signifikante T-Zell aktivierende Eigenschaften. Es stimuliert die Th1/CTL-Zytotoxizität, steigert die Apoptose von Tumorzellen und hat antientzündliche Eigenschaften.

Melatonin stimuliert die Immunzell-Bildung im Knochenmark, steigert die Aktivität von nativen Immunzellen, die Synthese von IL-12, TNFα, IL-1ß, stimuliert die T_H1-Differenzierung und IFNγ–Synthese und steigert die Proliferation von T-Zellen.

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Vitamin D hat äußerst wertvolle immunmodulatorische Effekte, die über spezifische Vitamin D-Rezeptoren auf Immunzellen umgesetzt werden. Vitamin D blockiert die Produktion von IL-12 und bremst die Th1-Aktivierung, andererseits steigert es die Antigenantwort naiver T-Zellen um ein Mehrfaches. Vitamin D stimuliert die TCR-Signalkette in T-Zellen, die im aktivierten Zustand den Vitamin D-Rezeptor exprimieren. Vitamin D verbessert also einerseits die antivirale Immunität, zum anderen hemmt es überschießende T-Zellaktivität und blockiert Autoimmunität (Pludowski, 2013).

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Literatur

Bach, J.F. (2002) The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. N. Engl. J. Med. 347, 911–920

Bettelli E, Korn T, Oukka M et al. Induction and effector functions of Th17 cells. Nature 2008; 453: 1051–1057

Bonilla FA, Oettgen HC. Adaptive Immunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125: S3-40

Bovman O. Bystander activation of CD4+ T cells Eur J Immunol 2010; 40: 936-939

Chauhan VP, Martin JD, Liu H, et al. Angiotensin inhibition enhances drug delivery and potentiates chemotherapy by decompressing tumour blood vessels.Nat Commun 2013; 4: 2516

Chu T, Tyznik AJ, Roepke S et al..Bystander-activated memory CD8 T cells control early pathogen load in an innate-like, NKG2D-dependent manner. Cell Reports 2013: 3(3):701-8

Cutolo M, Straub RH. Insights into endocrine-immunological disturbances in autoimmunity and their impact on treatment. Arthr Res Ther 2009; 11: 218-226

Frauwirth KA, Thompson CB. Activation and inhibition of lymphocytes by costimulation. J Clin Invest 2002; 109: 295-299

Frischmeyer-Guerrerio PA, Guerrerio AL, Oswald G, et al. TGF Receptor Mutations Impose a Strong Predisposition for Human Allergic Disease. Science Translational Medicine, 2013; 5 (195): 195ra94

Grammatikos AP (2008). "The genetic and environmental basis of atopic diseases". Ann Med 40: 482–95

Gregersen PK, Behrens TW. Genetics of autoimmune diseases — disorders of immune homeostasis. Nature Rev Genetics 2006; 7: 917-928

Jiang S, Dong C. A complex issue on CD4+ T-cell Subsets. Immunol Rev 2013; 252: 5-11

Kabelitz D, Schreiber S. Autoimmunität Physiologische Kontrollmechanismen und Wege zur Autoimmunerkrankung. Internist 2009; 50: 267-275

Kamradt T, Gögger R, Erb KJ. Induction, exacerbation and inhibition of allergic and autoimmune diseases by infection. Trends Immunol 2005; 26: 260-267

MacLeod KL, Kappler JW, Marrack P. Memory CD4 T cells: generation, reactivation and re-assignment. Immunology 2010; 130: 10-15

Minang J, Areström I, Ahlborg N. ELISpot Displays a Better Detection over ELISA of T Helper (Th) 2-Type Cytokine-Production by Ex Vivo-Stimulated Antigen-Specific T Cells from Human Peripheral Blood. Immunol Invest 2008;37:279-91

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de

Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. J Immunol 1986;136: 2348-57

Niller HH, Wolf H, Minarovits J. Regulation and dysregulation of Epstein–Barr virus latency: Implications for the development of autoimmune diseases. Autoimmunity 2008; 41: 298-328

O'Shea JJ, Paul WE. Mechanisms Underlying Lineage Commitment and Plasticity of Helper CD4+ T Cells. Science 2010; 327: 1098-1102

Perricone C, De Carolis C , Perricone R. Glutathione: A key player in autoimmunity. Autoimmunity Rev 2009;8:697–701

Pierdomeninici M, Ortona E. Estrogen Impact on Autoimmunity Onset and Progression: the Paradigm of Systemic Lupus Erythematosus. Int Trends Immunity 2013; 1: 24-34

Pludowski P, Holick MF, Pilz S. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity,cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality—A review of recent evidence. Autoimm Rev 2013; 12: 976-989

Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. J Immunol 1995; 155: 1151–1164

Schiraldi M, Moestier M. Autoimmunity and the environment: How can a chemical element elicit complex immunopathology? Lessons from mercury-induced autoimmunity. Trends Immunol 2009; 30: 502-509

Schreiber S, Rosenstiel P, Albrecht M et al. Genetics of Crohn disease, an archetypal inflammatory barrier disease. Nat Rev Genet 2005; 6: 376–388

Wang J, Su B, Ding Z, Du X, Wang B. Cimetidine enhances immune response of HBV DNA vaccination via impairment of the regulatory function of regulatory T cells. Biochem Biophys Res Comm 2008;372:491-96

Wherry EJ. T cell exhaustion. Nature Immunol 2011; 12: 492-499

Yang CY, Leung PSC, Adamopoulos E, Gershwin ME. The Implication of Vitamin D and Autoimmunity: a Comprehensive Review. Clin Rev Allerg Immunol 2013; 45: 217-226

Zandmann-Goddard G, Peeva E, Shoenfeld Y. Gender and autoimmunity. Autoimmun Rev 2007; 6: 366–372

© Dr. W. Bieger München, Tel.: 089-5432-170, e-mail: wilfried.bieger@t-online.de