

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

PD Dr. med. Wilfried Bieger
Dr. rer. nat. Annemarie Neuner

Privat-Praxis für Neurostress
München

Immunstimulation **Eine aktuelle Übersicht**

Oktober 2010

IMMUNSTIMULATION

In den industrialisierten Ländern nimmt die Lebenserwartung kontinuierlich zu. Das Krankheitsspektrum verschiebt sich allmählich von den durch ungesunde Lebensweise dominierten Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems zu den immunologisch geprägten Krankheiten des hohen Lebensalters – Krebs und Infektionen. Ihnen liegen altersabhängige Veränderungen der Immunkompetenz zugrunde, die unter dem Begriff der „Immunseneszenz“ zusammengefasst werden und die zunehmend intensiv untersucht werden. Das Altern des Immunsystems ist eine wachsende Herausforderung für die präventive Medizin. Aber ist es auch eine Chance für die Prävention unter der Frage: Kann durch präventive Maßnahmen der inhärente Prozess der Immunseneszenz modifiziert werden?

Immunprävention ist nicht nur ein Thema des Alters, Immunprävention bzw. Immunmodulation oder -therapie sind ebenso bedeutend bei gehäuftem Auftreten von Infektionen (Atemwege, Urogenitalapparat), bei chronischem Verlauf von Infektionen (Sinusitis, Bronchitis), bei häufiger Reaktivierung von latenten Infektionen (Herpes). Ebenso aber auch bei der stark zunehmenden Zahl allergischer und autoimmuner Erkrankungen, bei denen die Immunregulation versagt. Mehr noch bei Krebserkrankungen jeden Alters und in jedem Stadium, die sich durch Überwindung und Hemmung der Immunabwehr etablieren.

Inhalt

IMMUNSYSTEM	3
T-Lymphozyten	3
B-Lymphozyten	8
Natürliche Killerzellen	8
ZYTOKINE.....	10
IMMUNDIAGNOSTIK.....	13
Zytokine	14
T-Zellfunktion	14
T-Zellmodulatorassay.....	15
NK-Zellfunktion	16
NK-Zellmodulatorassay	16
Immunprofil	17
Immunmodulatoren.....	17
LITERATUR	24

IMMUNSYSTEM

Voraussetzung für eine erfolgreiche Immunprävention und –therapie ist ein gründliches Verständnis des Immunsystems. Die Immunabwehr basiert auf dem nativen und adaptiven Immunsystem. Die native Abwehr mit den dendritischen Zellen, Monozyten, Makrophagen, Granulozyten und natürlichen Killerzellen als ihren Hauptfunktionsträgern bildet ein hocheffizientes, robustes System zur schnellen Erkennung und Elimination von Pathogenen. Angeborene oder erworbene Defekte sind eher selten. **Allerdings hat die individuelle Lebensweise mit Bewegung, Ernährung und Vitalstoffversorgung erheblichen Einfluss auf die Effizienz dieses Systems.**

Das adaptive Immunsystem hat sich im Laufe der Evolution entwickelt und bietet erheblich differenziertere Möglichkeiten der Erkennung von Selbst- und Nonselbst-Antigenen und der Elimination von Pathogenen. Durch engste Interaktion zwischen Zellen des nativen Immunsystems und den Lymphozyten des adaptiven Systems werden Pathogen-spezifische Effektormechanismen generiert, ein Antigen-spezifisches immunologisches „Gedächtnis“ aufgebaut und die Homöostase des Immunsystems ausbalanciert.

Zellen des nativen Immunsystems phagozytieren Pathogene und präsentieren deren Antigene (Peptide) den Zellen des adaptiven Immunsystems als sog. Antigen-präsentierende Zellen (APC) in Verbindung mit MHC-Molekülen. Die Initiierung der spezifischen Immunantwort erfolgt nach Bindung der APC über MHC an den spezifisch rezeptiven T-Zellrezeptor (TCR) oder B-Zellrezeptor (Membran-Immunglobuline) und wird durch proentzündliche Zytokine der APC wie Interleukin 1, IL-6 und TNF-alpha intensiviert.

Aktivierete adaptive Immunzellen senden ihrerseits sowohl stimulierende (Interferon-gamma) als auch inhibitorische (IL-10, TGFβ) Signale an die nativen Immunzellen und bestimmen damit den weiteren Verlauf und das Ausmaß der Entzündungsantwort.

T-Lymphozyten

Während der Reifung der T- und B-Lymphozyten in den lymphatischen Organen Knochenmark (B-Zellen) und Thymus (T-Zellen) wird ihr Antigen-Erkennungsrepertoire (die Antigen-spezifischen Rezeptoren) über die somatische Rekombination eines breiten Spektrums von Gensequenzen enorm diversifiziert, was ihnen die spezifische Erkennung einer Vielzahl von Pathogenen ermöglicht.

Außerdem werden autoreaktive Zellen eliminiert. Doppelt positive, unreife T-Zellen, die sowohl CD4 als auch CD8 exprimieren, werden zu einfach positiven CD4- oder CD8-Zellen. CD4⁺/CD8⁺-Zellen, die mit epithelialen MHC I-Molekülen im Thymus interagieren, reifen zu CD8-Zellen, während Selektion über MHC II-Moleküle zu reifen CD4-Zellen führt. Diese reifen, jedoch noch Antigen-„naiven“ Lymphozyten wandern zu den sekundären lymphatischen Organen Milz und Lymphknoten, die wie ein Filter zirkulierende Antigene absorbieren. Antigen-präsentierende Zellen (APC) dort nehmen die Pathogene aus der Zirkulation auf. Besonders viele APC's befinden sich in der Haut und den Schleimhäuten. Auch sie wandern nach Antigenkontakt zu den sekundären Lymphorganen, um Kontakt mit den Lymphozyten dort herzustellen.

Allen T-Zellen gemeinsam ist der T-Zellrezeptor (TCR), der nach extensiver genomischer Restrukturierung in der Reifungsphase aus mehreren Ketten besteht, in der Regel als $\alpha\beta$ -TCR, seltener als $\gamma\delta$ -TCR strukturiert ist. Der TCR bildet eine Einheit mit dem CD3-Molekülkomplex, der $\gamma\delta\epsilon\zeta$ -Ketten enthält und die Aktivierung der T-Zellen nach der MHC-TCR-Bindung initiiert. Der CD3-Komplex ist das Kennungsmolekül aller T-Zellen. Neben dem CD3- ist noch das CD45-Molekül für die Aktivierung der T-Zellen erforderlich.

Reife, „naive“ CD8-Zellen reagieren mit Antigenen, die von allen Zellen präsentiert werden können, die MHC I-positiv (HLA-A,B,C) sind. MHC I-gekoppelte Antigene stammen in der Regel von intrazellulären Proteinen oder von intrazellulären Erregern. Der Antigenrezeptor (TCR) von CD4-Zellen reagiert dagegen nur mit Antigenpeptiden, die über MHC II (HLA-DR,DQ,DP) angeboten werden.

Die durch Antigenkontakt spezifisch aktivierten Lymphozyten gelangen anschließend in die Peripherie und etablieren am Ort des Geschehens die Effektor-Immunantwort.

Für die volle Aktivierung der T-Zellen ist allerdings neben der MHC-TCR-Kopplung ein zweites Signal erforderlich, das durch die Bindung von kostimulierenden Faktoren der APC an entsprechende Rezeptormoleküle der T-Zellen (z.B. B7 an CD28, CD40 an CD154, CD45 an CD22) zustande kommt. Weitere kostimulatorische Signale werden durch Zytokine wie die proinflammatorischen IL-1, TNF, IL-6 oder IL-12 beigesteuert.

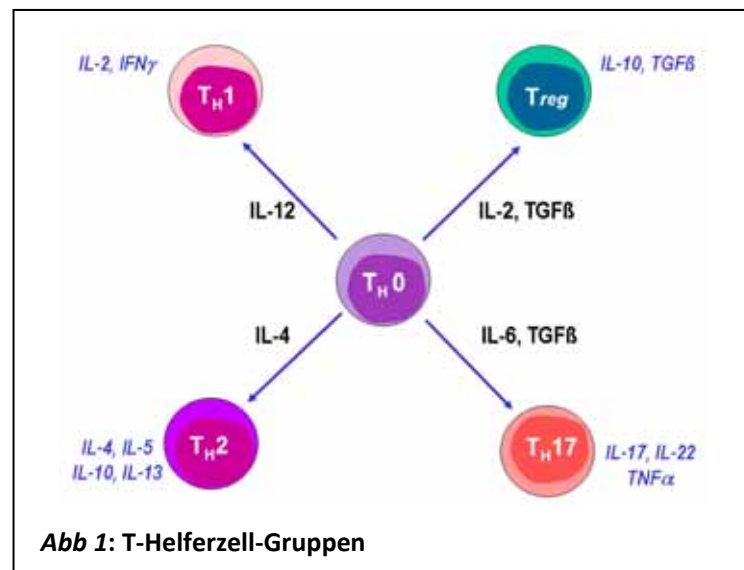
Während der Reifungsprozess im Thymus und die Antigen-spezifische Aktivierung einheitlich sind, unterscheiden sich die T-Zellen in ihren Effektorfunktionen. Die Mehrzahl der **CD4-Zellen** ($CD3^+$, $CD4^+$) fungiert als Helferzellen (T_H -Zellen), die über Direktkontakt oder sekretorische Zytokine B- und T-Zellreaktionen bahnen. Sie bilden zwei Gruppen. Die T_H1 -Zellen zeichnen sich durch die Produktion von Interleukin-2 (IL-2) und Interferon-gamma ($IFN\gamma$) aus, sie differenzieren sich aus naiven T_H0 -Zellen ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD25^-$, $CD62L^+$, $CD45RA^+$) unter dem Einfluss von IL-12 (IL-18, IL-27), das aus Zellen des nativen Immunsystems stammt. Die T_H2 -Zellen, die unter dem Einfluss von IL-4 (IL-10, IL-19, IL-25, IL-33) aus T_H0 -Zellen entstehen, bilden dagegen IL-4, IL-5, IL-10 und IL-13. IL-4 stammt von T_H0 -Zellen selbst, oder aus Basophilen, Mastzellen und NKT-Zellen.

T_H1 -Zellen steuern zelluläre Immunreaktionen und aktivieren NK-Zellen, zytotoxische T-Zellen und Makrophagen. T_H2 -Zellen stimulieren in erster Linie B-Zellen und die Immunglobulin-Produktion in Plasmazellen.

In den letzten Jahren haben neue Beobachtungen allerdings dazu geführt, dass sich das Funktionsprofil der T_H -Zellen weiter diversifiziert hat und der überschaubare T_H1 - T_H2 -Antagonismus einem komplexeren System gewichen ist.

Unter dem Einfluss von $TGF\beta$ und IL-6 (bzw. IL23, IL-1 β , $TNF\alpha$) können sich T_H0 -Zellen zu den sog. **T_H17 -Zellen** ($CD3^+$, $CCR6^+$, $ROR\gamma t^+$) differenzieren, die die Zytokine IL-17 und IL-21 und IL-22 produzieren. IL-23 ist dabei notwendig für die volle, lang anhaltende Aktivierung der T_H17 -Zellen. T_H17 -Zellen sind vor allem in Haut und Schleimhäuten zu finden. Sie fördern einerseits die antibakterielle Immunität, stimulieren die Reifung von Granulozyten und die Chemotaxis, wirken andererseits stark inflammatorisch, induzieren die Bildung der proentzündlichen Zytokine IL-6 und TNF-alpha, fördern Autoimmunität und akute sowie chronisch allergische Entzündungen (Asthma, atopische Dermatitis, Psoriasis).

Auch bei Kontaktallergien (Nickelallergie) dominieren IL17-produzierende T-Zellen. Die Zahl allergen-spezifischer T_H17-Zellen im Blut korreliert mit der Stärke der allergischen Entzündungen. Die Differenzierung der T_H17-Zellen wird durch IL-4 und T_H2-Zytokine gehemmt.



Kürzlich wurde eine weitere T_H-Untergruppe beschrieben. Unter dem Einfluss von TGF β und IL-4 differenzieren sich aus T_H0- bzw. T_H2-Zellen die IL-9 produzierenden **T_H9-Zellen**. IL-9 stimuliert die Proliferation von Mastzellen und aktiviert die Darmimmunabwehr gegen Parasiten.

Eine T_H-Gruppe mit besonderer Bedeutung sind die erst 1995 beschriebenen (Sakaguchi) **regulatorischen T-Zellen** (T_{reg}: CD3⁺, CD25⁺, CD45RA^{+/+}, Foxp3⁺), die durch das Zusammenwirken von IL-2 und TGF β induziert werden. Sie produzieren die antientzündlichen Zytokine IL-10 und TGF β .

Zwischen T_{reg} und T_H17-Zellen besteht ein reziprokes Verhältnis. Naive T_H0-Zellen können sich nach Aktivierung durch Antigen unter dem Einfluss von TGF β in regulatorische T-Zellen differenzieren. Bei gleichzeitiger Anwesenheit proentzündlicher Zytokine wie IL-6 (oder IL-21) wird der T_{reg}-Weg jedoch blockiert und die T_H0-Zellen reifen zu T_H17-Zellen.

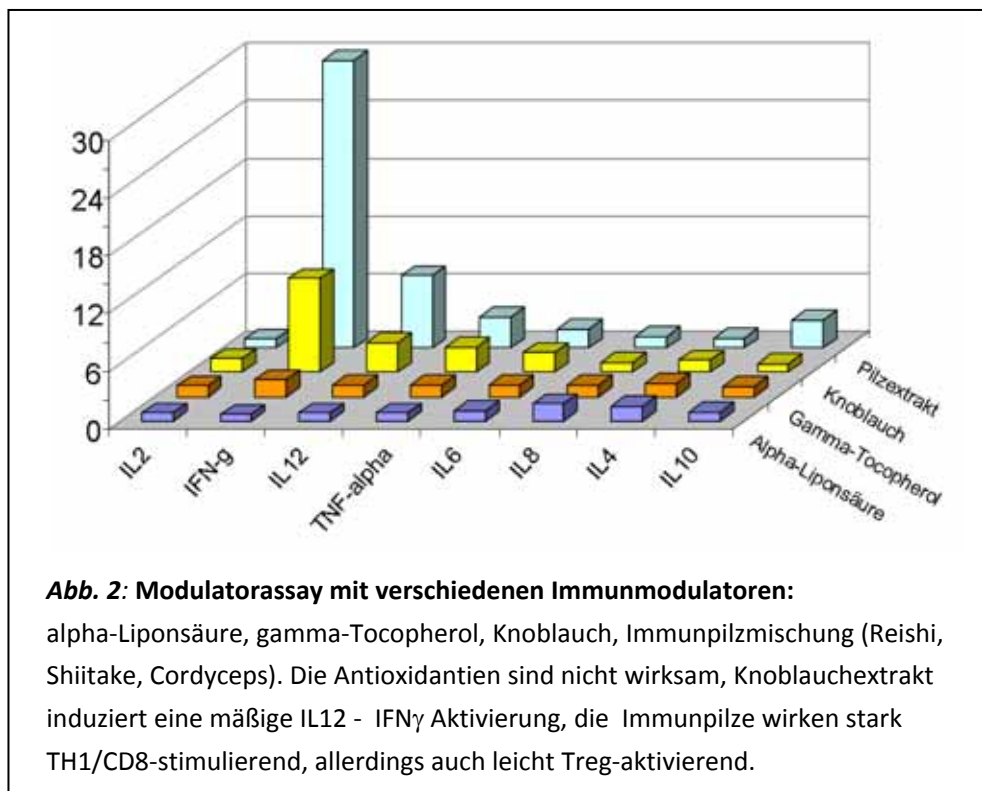
Treg sind entscheidend für die Kontrolle von Entzündungen, hemmen die Proliferation von CD4- und CD8-Zellen sowie B-Zellen, regulieren die zytotoxische Aktivität von CTL (zytotoxische T-Zellen), hemmen sowohl die T_H1-Immunität als auch die Aktivität des nativen Immunsystems: dendritische Zellen, Monozyten, NK-Zellen. Sie sind damit maßgeblich für die Kontrolle aller Pathogen-induzierten Effektorfunktionen und die Aufrechterhaltung der Toleranz.

Die zweitstärkste T-Zellfraktion bilden die CD8-Zellen (CD3⁺, CD8⁺) die in erster Linie MHC I-präsentierte intrazelluläre Peptidantigene erkennen, die von zytosolischen Proteinen oder intrazellulären Pathogenen stammen. Sie reagieren außerdem mit MHC I-exprimierenden Tumorzellen und können infizierte Zellen und Tumorzellen innerhalb weniger Minuten nach „Erkennung“ apoptotisch eliminieren. Die Apoptose wird durch die Ausschüttung von Proteasen (Granzyme) aus T-Zellgranula bzw. durch verstärkte Expression des Fas Liganden FasL und Bindung an Fas-Moleküle auf der Zielzelle umgesetzt.

Während die Hauptfraktion der CD8-Zellen zytotoxische Effektorzellen sind, existiert auch eine Unterfraktion regulatorisch aktiver CD8-Zellen mit hohem Zytokin-Sekretionspotential. Wie die CD4-Zellen formen auch CD8-Zellen nach Antigenkontakt ein „Gedächtnis“. Je nach Antigen und Umfeld wird bereits zu Beginn der Aktivierung ein Teil der Antigen-„naiven“ Zellen (CD45RA⁺) zu langlebigen Memory-Zellen (CD45RO⁺) polarisiert und erreicht nicht das Funktionsstadium der kurzlebigen Effektorzellen. Proentzündliche Zytokine im Umfeld favorisieren die Entstehung von Effektorzellen. NF-κB Signale fördern die Memory-Entstehung. Memory-Zellen können bei erneutem Antigenkontakt umgehend reagieren, zytotoxisch aktiv werden und Zytokine sezernieren. Auch Effektorzellen können nach Antigenelimination Memory-Status erreichen. Je avider der TCR der T-Zellen für das betreffende Antigen desto stärker der Memory-Effekt.

Eine weitere Unterfraktion der T-Zellen sind die **γδ-T-Zellen**, deren Antigenrezeptor nicht aus dem normalen T-Zellrezeptor (αβ-TCR), sondern dem analogen γδ-TCR besteht. Die Mehrzahl dieser Zellen ist CD4- und CD8-negativ, **sie interagieren nicht mit MHC-I/II- Liganden sondern mit Antigenen, die über nichtklassische Moleküle der CD1-Familie präsentiert werden.** Die γδ-T-Zellen machen normalerweise weniger als 5% der zirkulierenden T-Zellen im Blut aus. Bei viralen Infektionen können jedoch 10 % in der Zirkulation beobachtet werden. Die Hauptmenge findet sich allerdings im Gastrointestinaltrakt.

Das CD1-Molekül ist ein MHC I-verwandtes Molekül, das strukturell weit weniger polymorph als die MHC-Familie ist. Sechs Untergruppen, CD1 α – CD ϵ , sind bekannt, von denen CD1d die bei weitem häufigste ist. CD1d kann neben Peptidantigenen auch Nonpeptid-Antigene wie Glycolipide und Phospholipide präsentieren und bindet u.a. das immunmodulatorische Glycolipid α -GalCer (alpha-Galactosylceramid). Darüber hinaus können APC auch durch CD1-Crosslinking ohne Zell-Zellkontakt aktiviert werden und Zytokine wie IL-12, IFN α und IFN γ sezernieren.



Auch die sog. **NKT-Zellen** (natürliche Killer-T-Zellen) sind in der Lage, Nonpeptid-Antigene, die über CD1 angeboten werden, zu erkennen. NKT-Zellen sind überwiegend T-Zellen mit einem strukturell sehr limitierten, *invarianten* T-Zell-rezeptor (*iNKT-Zellen*). Sie verfügen außerdem wie NK-Zellen über die Fähigkeit der Zytotoxizität und über NK-Zell-typische Rezeptoren wie CD16, CD56 oder CD57.

Sie werden einerseits durch mikrobielle Glycolipidantigene aktiviert, die über CD1 präsentiert werden, oder Antigen-unabhängig über native APC-Zytokine wie IL-12. iNKT-Zellen produzieren unmittelbar nach Aktivierung große Mengen von Zyto-

kinen, u.a. auch IL-4 und IFN γ . Sie fungieren als wichtige kostimulatorische Zellen für die Aktivierung von T-Zellen und verstärken die zytotoxische Effektoraktivität. Darüber hinaus fördern sie die zytotoxische Gedächtnisfunktion der CD8-Zellen und sind essentiell für eine effektive antivirale und Tumorummunität während sie ihrerseits kein „Gedächtnis“ entwickeln. Sie werden außerdem mit der Pathogenese von allergischen Erkrankungen in Beziehung gebracht.

B-Lymphozyten

Die *B-Zellen* (CD19) sind die zweite Säule der adaptiven Immunabwehr. Sie sind vergleichsweise weniger diversifiziert. B-Zellen entwickeln sich ohne jeden Antigenkontakt zum reifen Stadium. Sie weisen einen B-Zellrezeptor (BCR) auf, der analog dem TCR aufgebaut ist und das charakteristische CD19-Molekül als Korezeptor enthält (analog CD4/CD8). Die variablen Elemente des BCR bestehen aus den Struktursegmenten der Immunglobuline (Leicht- und Schwereketten).

Antigenkontakt führt zur Aktivierung der „naiven“ B-Zelle und endet mit der Wandlung zu Plasmazellen, die die betreffenden, Antigen-spezifischen Rezeptor-Immunglobuline in hoher Zahl produzieren und sezernieren. Einige Antigene (z.B. Mitogene wie PWM oder PHA) können B-Zellen T-Zell-unabhängig aktivieren.

Bei weitem die meisten Antigene benötigen jedoch die Mitwirkung von T-Zellen. **Für die komplette Aktivierung von B-Zellen sind zwei Signale erforderlich.** Ein Signal kommt durch „Cross-linking“ von Immunglobulin-Rezeptoren zustande. Das zweite Signal entsteht durch Interaktion mit T-Zellen, wobei B-Zellen als APC's fungieren und über MHC II Antigene präsentieren, die sie zuvor aufgenommen haben. Beim Zusammentreffen mit CD4-Zellen, die für das betreffende Antigen über eigene MHC II spezifisch reaktiv sind, entsteht direkter Zell-Zellkontakt und die endgültige Differenzierung von B-Zellen zu Plasmazellen oder „Memory-Zellen“ wird gebahnt. Dieser Schritt entspricht der Interaktion von T-Zellen mit dendritischen Zellen (APC).

Wie bei T-Zellen ist für die erfolgreiche Aktivierung der B-Zellen während des B/T-Kontaktes die Mitwirkung kostimulatorischer Signale erforderlich. Wie die dendritischen APC bei der T-Zellaktivierung exprimieren B-Zellen Moleküle wie B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), CD40 oder CD45. Nach diesem Schritt führt ein Weg zu kurzlebigen Plasmazellen, die niedrig affine Antikörper der Klasse IgM sezernieren, der Hauptweg führt die B-Zellen jedoch in Lymphfollikel, wo in germinalen Zentren

durch Genrearrangement ein „Class-switching“ erfolgt und langlebige Plasmazellen geformt werden, die höher affine Antikörper der Klassen IgA, IgG oder IgE bilden. Der Prozess des Class-switching wird maßgeblich durch Zytokine wie IL-4 und IL-13 (IgE), IFN-gamma (IgG) oder IL-10 und TGF-beta (IgA) gesteuert. Er ist begleitet von Punktmutationen der Immunglobulingene, die als Hypermutationen bezeichnet werden und die die Antigenaffinität der spezifischen Antikörperklassen weiter steigern.

Natürliche Killerzellen (NK-Zellen)

NK-Zellen (CD3⁻, CD56⁺, CD57⁺) sind zytotoxische Lymphozyten, die dem nativen Immunsystem zugerechnet werden. Sie sind zwar enge Verwandte der zytotoxischen T-Zellen, sie besitzen jedoch keinen T-Zellrezeptor und nehmen nicht am Genrearrangement zur Spezifizierung der Antigenerkennung teil, sodass ihre Antigen-Erkennungsfähigkeit begrenzt ist.

Ein weiterer Unterschied zu den Zellen des adaptiven Immunsystems besteht in der mangelnden Fähigkeit der NK-Zellen zur Ausbildung eines Antigen-Gedächtnisses. Allerdings wurde erst kürzlich gezeigt (Cooper, 2009), dass NK-Zellen bei wiederholtem Antigenkontakt verstärkt reagieren können.

NK-Zellen exprimieren ein invariables, komplexes Muster aktivierender und inhibitorischer Rezeptoren, die ihre Funktion steuern. Sie sezernieren außerdem eine Reihe von Chemokinen und Zytokinen, vor allem Interferon-gamma, die die Pathogenantwort von nativen und adaptiven Immunzellen unterstützen. Körper-eigene Zellen werden über inhibitorische Rezeptoren anhand ihres MHC I- oder MHC II-verwandten Expressionsmusters erkannt und toleriert. Zellen, die in ihrem Oberflächenmuster verändert sind, wie infizierte Zellen oder Tumorzellen, werden ggf. über aktivierende Rezeptoren erkannt und eliminiert.

Da das Rezeptorrepertoire der NK-Zellen begrenzt ist, sind jedoch für eine effiziente Aktivierung der NK-Zellen häufig zusätzliche Signale erforderlich. Diese werden vor allem von Zellen des adaptiven Immunsystems beigesteuert. CD4-Zellen stimulieren durch IL-2 und IFN γ , native Immunzellen stimulieren über IL-12, IFN α , IL-18. Treg hemmen dagegen über IL-10 und vor allem TGF β ihre zytotoxische Aktivität und Antitumor-Effizienz.

Eine der wesentlichen Aufgaben der NK-Zellen besteht in der „*Immunsurveillance*“, der Erkennung und frühzeitigen Vermeidung von Infektionen und Elimination von mutierten Zellen („alterierte Zellen“) über ihre zytotoxisch-aktivierenden Rezeptoren wie NKp30, NKp46, NKp80. Vor allem der aktivierende Rezeptor NKG2D, der auch auf aktivierten CD8/T-, $\gamma\delta$ T- und NKT-Zellen vorkommt, ist für die Tumor-Immunsurveillance wichtig.

Tumorzellen können sich über eine Vielzahl von Veränderungen als alterierte Zellen verdächtig machen. Hierzu zählt die Aktivierung von Oncogenen, die Mutation von Suppressorgenen, oxidativer/nitrosativer Stress, erhöhte Stoffwechselaktivität, hohe DNA-Schädigungs- und Repairaktivität, die zu Veränderungen des Oberflächen-Antigenmusters oder auch zur Suppression oder Expression von NK-Rezeptoren wie NKG2D führen können.

Hohe zytotoxische Aktivität von NK-Zellen korreliert mit Gesundheit und Langlebigkeit, niedrige Zytotoxizität mit erhöhter Morbidität und Mortalität, erhöhter Inzidenz von Infektionen wie Influenza, und Tumoren. **Die Zahl der zirkulierenden NK-Zellen ist dagegen nicht von Bedeutung, sie unterliegt starken individuellen und tageszeitlichen Schwankungen.**

Im Unterschied zu T- und B-Zellen steigt die Zahl der NK-Zellen im Alter leicht an, ihre zytotoxische Aktivität nimmt jedoch ab. Dies betrifft die phylogenetisch jüngeren zytotoxischen Mechanismen, in denen sie den zytotoxischen T-Zellen entsprechen (Apoptose durch Granzyme oder FasL-Expression), während ursprüngliche Formen der Zytotoxizität wie die über den niedrig affinen Fc-Rezeptor CD16 vermittelte ADCC (Antibody dependent cellular cytotoxicity) nicht betroffen sind.

Normalerweise sind ca. 90% der NK-Zellpopulation im Blut zytotoxische Zellen (CD16⁺, CD56^{dim}), 10% sind regulatorische Zellen (CD16⁻, CD56^{bright}) mit hoher Zytokinproduktionsrate, vor allem IFN γ und TNF α . Dagegen sind die meisten NK-Zellen in lymphatischen Organen vom regulatorischen Typ. Die Lebensdauer von NK-Zellen im Blut liegt normalerweise bei 14 Tagen, die zytotoxische Aktivität „ruhender“ Zellen ist gering. Durch aktivierenden Zell-Zellkontakt und Zytokine (IL-2, IFN γ , IL-12, etc.) wird ihre Zytotoxizität und auch die Zytokinbildung massiv gesteigert. Akut aktivierte NK-Zellen exprimieren – wie T-Zellen auch - für ein bis drei Tage das CD69-Antigen, außerdem verstärkt CD25, den IL-2-Rezeptor, und die Aktivierungsrezeptoren.

Chronisch aktivierte NK-Zellen entwickeln vermehrt regulative, immunsuppressive Eigenschaften, sie bilden zunehmend das toleranzfördernde IL-10, vergleichbar den chronisch aktivierten, IL-10-positiven T-Effektorzellen. Vor allem IL-2 und IL-12 können die IL-10 Synthese der NK-Zellen stimulieren. NK-Zellen nehmen auch an der Regulation von Entzündungsprozessen teil, denn sie können ebenso wie Effektor-T-Zellen hyperaktivierte Makrophagen eliminieren.

Bei Tumorerkrankungen steigt der Anteil regulativer NK-Zellen im Blut an, die zytotoxische Fraktion fällt ab.

NK-Zellen unterliegen starkem Einfluss des neuro-endokrinen Stress-Systems.

Noradrenalin und Cortisol hemmen beide stark die NK-Zytotoxizität. Bei akutem und noch mehr bei chronischem Stress sind die NK-Zellen besonders stark betroffen. Bei Depressionen, die einen chronischen Stresszustand mit hohem Cortisol/Noradrenalin und niedrigem Serotonin darstellen, ist die NK-Zellaktivität ebenfalls eingeschränkt. Serotonin und SSRI-Antidepressiva (Selektive Serotonin-Reuptake Inhibitoren) stimulieren die NK-Aktivität.

ZYTOKINE

IL-1 besteht aus einer Familie von 5 Molekülen: IL-1 α , IL-1 β , IL1ra, IL-18 und IL-33. IL-1 α und IL-1 β haben weitgehend identische biologische Wirkungen, IL-1ra fungiert als IL-1 Antagonist, indem es wirkungslos an den IL-1-Rezeptor bindet. IL-1 wird in erster Linie von Zellen des nativen Immunsystems produziert, außerdem von Endothelien, Keratinozyten, Synovialzellen, Osteoblasten, etc. Zu den wichtigsten Effekten von IL-1 zählt die Aktivierung von T-Zellen und Stimulation der IL-2 Bildung. Das Wirkungsspektrum von IL-1 im Rahmen der Immunantwort gleicht dem von TNF und steuert viele zentrale Begleiteffekte wie Fieber, Fatigue, Lethargie, Schlaf, Schmerzen, Anorexie. In der Leber stimuliert es die Bildung von Akut-Phase-Proteinen.

IL-2 wird nach Stimulation von T-Zellen durch Antigen (Signal 1), Kofaktorbindung (CD28-Interaktion mit B7 oder CD80, CD86) und IL-1 und IL-6 (Signal 3) gebildet. Gleichzeitig werden auf Effektor-Zellen hochaffine IL2-Rezeptoren exprimiert und durch IL-2 Bindung deren klonale Proliferation induziert. Die simultane Induktion von IL-2 Sekretion und IL2-Rezeptoren auf Effektorzellen garantiert, dass nur

Antigen-spezifische Effektorzellen proliferieren. IL-2 steuert außerdem die Treg-Differenzierung im Thymus, stimuliert NK-Zellen, B-Zellen, zytotoxische T-Zellen und Makrophagen.

IL-6 hat eine enorme Wirkungsbreite. Es wird vor allem von den Zellen des nativen Immunsystems produziert (dendritische Zellen, Monozyten, Makrophagen, Gliazellen, Mastzellen), einigen aktivierten T-Zellen und B-Zellen, darüber hinaus auch außerhalb des Immunsystems von Fibroblasten, Endothelzellen, Keratinozyten, Leberzellen, Knochenmarkszellen und Tumorzellen. Es wird durch zahlreiche Zytokine induziert, u.a. von IL-1, IL-3, TNF α , IL-17, GM-CSF. Es ist aktiver Teil der entzündlichen Immunantwort, stimuliert mit TGF β die Differenzierung von T_H17-Zellen und induziert in der Leber die Synthese von Akut-Phase-Proteinen. B-Zellen differenzieren sich unter dem Einfluss von IL-6 zu Plasmazellen und sezernieren Antikörper. IL-6 teilt viele Aktivitäten mit IL-1 und TNF: Fieber, Schlaf, Akut-Phase-Reaktion.

IL-8 (CXCL8) zählt zu den Chemokinen, einer Gruppe niedermolekularer Proteine, die in erster Linie die Migration von Immunzellen (Chemotaxis) stimuliert. Sie wirken außerdem bei der Immunsurveillance und dem Antigenprocessing mit. IL-8 gehört zur Untergruppe der inflammatorischen Chemokine. Es stammt von mononukleären Zellen, Endothelzellen, Epithelien, Granulozyten, T-Zellen, Fibroblasten, Leberzelle oder Keratinozyten, etc. Es wird durch Entzündungszytokine (IL-1, TNF) LPS und Viren induziert. Es ist das potenteste Chemoattractant für Granulozyten, stimuliert den respiratorischen Burst und die Endotheladhärenz.

IL10 ist ein besonders wichtiges immunregulatorisches Zytokin. Es wird vorwiegend von Treg gebildet, in geringerem Maße auch von Monozyten und B-Zellen. Es wirkt stark antientzündlich, hemmt die IFN γ -Produktion von TH1-Zellen, IL-4 und IL-5 von TH2-Zellen, IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-12 von mononukleären Zellen und IFN γ und TNF α von NK-Zellen. Darüber hinaus hemmt IL-10 die MHC II-Bildung, die Expression von CD28 und kostimulatorischen Molekülen (CD80, CD86). Andererseits ist es wichtig für die Allergentoleranz und wird konstitutiv von Atemwegsepithelien exprimiert.

IL-12 und IL-23 sind Heterodimere, denen eine p40 Untergruppe gemeinsam ist. Ihre Hauptquelle sind dendritische Zellen, außerdem Monozyten/Makrophagen, Langerhans-Zellen, B-Zellen, Granulozyten und Mastzellen. Beide Zytokine sind in die Aktivierung der T-Zellen involviert und steuern die Differenzierung von T_H1- und T_H17-Zellen. Sie stimulieren die Bildung von IFN γ , die Proliferation und Zytotoxizität von T-Zellen und NK-Zellen. IL-23 ist außerdem wichtig für die Differenzierung von T_H17-Zellen.

IL17 (IL-17a) wird von TH17-Zellen produziert, in geringer Menge auch von Neutrophilen, Eosinophilen, CD8/T-Zellen, Basophilen und Mastzellen. Es ist vorrangig für die T-Zellreaktion und Neutrophilenrekrutierung gegen extrazelluläre Pathogene, stimuliert die Sekretion von IL-6, IL-11, GM-CSF, TGF β und einigen Chemokinen in Endothelien, Epithelien, Fibroblasten, Hautzellen. Es ist maßgeblich an autoimmunen und allergischen Entzündungen beteiligt.

IFN γ , das einzige Typ II-Interferon, ist einer der wichtigsten Mediatoren von Immunfunktion und Entzündung. Es wird nahezu ausschließlich von T-Zellen (T_H1, CD8, NKT) und NK-Zellen und nur wenig von Makrophagen gebildet. Unter dem Einfluss von IL-12 differenzieren T_H0-Zellen sich zu IFN γ -produzierenden T_H1-Zellen. IFN γ vermittelt die Aktivierung von Makrophagen und NK-Zellen, die Differenzierung von T_H-Zellen, die Abtötung von Pathogenen, insbesondere Viren und von Tumorzellen. Es hemmt das anti-entzündliche IL-10 und die T_H2- und T_H17-Differenzierung über IL-4 bzw. IL-6 und TGF β . Es hemmt daher auch die Entstehung und Aktivität von Autoimmunerkrankungen.

Typ I-Interferone sind IFN α , β , ω , die vorwiegend von Monozyten/Makrophagen, B-Zellen und NK-Zellen gebildet werden. Sie hemmen die Virusreplikation, stimulieren die antivirale Immunität, schützen nichtinfizierte Zellen. IFN α stimuliert außerdem die Antitumor-Immunität und fördert die MHC I-Expression.

TNF α wird in erster Linie von den Zellen des nativen Immunsystems gebildet, jedoch auch von T_H1-Zellen, NK-Zellen, T_H17-Zellen und außerhalb des Immunsystems von zahlreichen Zellen im Darmtrakt, Fettgewebe, von Endothelien, etc. Das homologe TNF β wurde ursprünglich nur Lymphozyten zugeordnet (T_H1-Zellen). TNF α und TNF β binden an die gleichen Rezeptoren, TNFr I (p75) und TNFr II (p55), und haben fast identische Wirkungen. TNF ist ein potenter Aktivator von Granulozyten und induziert die Kaskade der Entzündungsantwort mit IL-1 β , IL-6 und Chemokinen (IL-8). TNF stimuliert außerdem die Antitumor-Immunität und hat selbst zytotoxische

Wirkung auf Tumorzellen. TNF ist verantwortlich für die Kachexie bei chronischen Infektionen und Tumoren.

TGF β ist ein pleiotropes Zytokin mit einer Vielzahl von Funktionen in der Entwicklung und Differenzierung von T-Zellen und der Immunhomöostase. Es wird vorwiegend von regulatorischen T-Zellen produziert, aber auch von anderen T-Zellen, Eosinophilen, Monozyten oder von Tumorzellen. Es wirkt vor allem hemmend auf B-Zellen und zytotoxische T-Zellen, NK-Zellen und Monozyten. Generell wirkt es immunsuppressiv, toleranzfördernd, antiproliferativ und proapoptotisch. Es fördert den Isotyp-Switch zu IgA und die Synthese von sekretorischem IgA im Darm. Es ist entscheidend für die Toleranz gegenüber Nahrungsmittelantigenen und Darmbakterien. Andererseits stimuliert TGF β die Differenzierung der proentzündlichen T_H17- und T_H9-Zellen.

Die Komplexität des Immunsystems, die enge Interaktion von nativer und adaptiver Immunabwehr, die Vielfalt der T-Zellpopulationen und die Dynamik der NK-Zellen sind eine große Herausforderung für alle Versuche der Immunmodulation oder Immuntherapie.

Es ist offensichtlich, dass eine eingehende Immundiagnostik mit Feststellung des aktuellen Funktionsstatus unabdingbar ist. Es reicht heute nicht mehr aus, mit Basistests wie dem klassischen flowzytometrischen Immunprofil die Lymphozyten-Subpopulationen zu bestimmen oder mit dem Lymphozytentransformationstest (LTT) die Globalfunktion (Proliferationsantwort) der T-Zellen zu analysieren.

Es ist ebenso undenkbar, dass ein Immunmodulator in jedem Fall die gewünschte Wirkung zeigt. Die Wirkung von Immunmodulatoren (**BRM** = *Biologische Response Modifiers*) hängt häufig vom aktuellen Funktionszustand des Immunsystems ab. Der gleiche BRM kann je nach Funktionsstatus stimulierend oder hemmend wirken.

IMMUNDIAGNOSTIK

Für die eingehendere Diagnostik der Immunfunktionen stehen uns heute eine Reihe hoch entwickelter Verfahren zur Verfügung, deren Anwendung in der Routine allerdings durch Aufwand und Kosten limitiert ist. Da die immunologischen Reaktionen über die Blutbahn verbreitet werden, sind die reifen, im Blut zirkulierenden Immunzellen grundsätzlich gut für die Diagnostik geeignet. Deren Aktivitätsprofil kann über funktionelle Analysen und vor allem die Bestimmung der aktuellen Zytokinmatrix, die Zelltyp und Funktionszustand erkennen lässt, bestimmt werden.

Zytokine

Allerdings ist die Messung von Zytokinkonzentrationen im Blut selbst nur in engen Grenzen anwendbar, da entweder die Konzentration des betreffenden Zytokins im Blut zu gering ist oder, wie in den meisten Fällen, die Plasmahalbwertszeit zu kurz ist. Die direkte Messung im Blut ist normalerweise nur für die folgenden Zytokine sinnvoll: IL-6, TNF α , IL-8, IL-10, TGF β . Andere Zytokine wie IL-2, IFN γ , IL-12, IL-1, IL-17 oder IL-4 sind nur bei hohem Aktivierungsgrad der betreffenden Zellpopulationen im Blut messbar.

Einige Zytokine können indirekt über ihren löslichen Rezeptor gemessen werden, der im Fall der Zytokinaktion zumindest teilweise in Lösung geht und eine längere Plasmahalbwertszeit als das Zytokin selbst aufweist: sIL2r (soluble IL2 receptor) für IL-2, sTNFrI und sTNFrII für TNF α , sIL6r für IL-6. Die Bestimmung des löslichen Rezeptors liefert außerdem eine Information über die Aktivität des betreffenden Zytokins.

Schließlich kann IFN γ über das länger zirkulierende Chemokin IP-10 gemessen werden, das durch IFN γ exprimiert wird. Die Aktivierung der Makrophagen kann ggf. durch Neopterin festgestellt werden.

T-Zellfunktion

ITT (Immun-Transformationstest): Im Allgemeinen ist die in-vitro Bestimmung der Zytokinkonzentrationen für die Funktionsanalyse und Differenzierung der T-Zellaktivitäten erheblich aussagekräftiger. In diesem Fall werden Patientenlymphozyten isoliert (T/B/NK-Lymphozyten, Monozyten, dendritische Zellen) und die so gewonnene mononukleäre Zellfraktion (PBMC = peripheral blood mononuclear cells) 42 h inkubiert. Anschließend wird das gewünschte Zytokinprofil im Kulturüberstand oder im sog. EliSpot-Assay auf Einzelzellniveau gemessen.

Der Elispot-Assay (Minang, 2008) erlaubt die hochsensitive Bestimmung einzelner Zytokine und deren Zuordnung zu einem bestimmten Zelltyp, der Zytokinprofil-Assay erlaubt dagegen die simultane Messung zahlreicher Zytokine ohne diese jedoch einem bestimmten Zelltyp zuordnen zu können. IL-2 Anstieg in der Kultur signalisiert spezifische Antigen(Mitogen)-Erkennung und Proliferation, IL-4 die Aktivierung von T_H2-Zellen, IL-10 und TGFβ die Treg Aktivierung und Induktion von Toleranz, IFNγ die Aktivierung von zytotoxischen T_H1/CD8-Zellen (NK-Zellen), IL-17 die Beteiligung von T_H17-Zellen, IL-1β und IL-6 die Entzündungsantwort des nativen Immunsystems (dendritische Zellen bzw. Monozyten, die sich mit den Lymphozyten zusammen in der Zellkultur befinden).

Der **LTT (Lymphozyten-Transformationstest)** wird ganz analog durchgeführt. Patienten-PBMC werden isoliert und in diesem Fall 4 - 6 Tage mit Mitogen oder Antigen inkubiert. Kommt es zur Antigen-spezifischen Aktivierung von Memoryzellen, vermehrt sich der reaktive T-Zellpool, es kommt zu gesteigerter DNA-Synthese mit Einbau von markierten Nukleotiden.

Anschließend wird der Proliferationsindex über die Zunahme des markierten DNA-Pools bestimmt, der eine Aussage über das Aktivitätsniveau der T-Zellen erlaubt, das Antigen-unabhängig mit Mitogenen (PWM, ConA) oder Antigen-spezifisch mit TCR-Antikörpern (OKT3) oder viralen Musterantigenen (Influenza) erreichbar ist.

Die Proliferationsantwort ist ein sehr spezifisches, robustes Zeichen der T-Zellfunktion und der spezifischen Antigenantwort, liefert jedoch keine weitergehende Information über die einzelnen beteiligten T-Zellpopulationen oder die Qualität Antigen-spezifischer Reaktionen, da sowohl Toleranz als auch Inflammation resultieren können.

T-Zellmodulatorassay

Die Wirkung von BRM auf die T-Zellen kann grundsätzlich mit beiden Testsystemen (ITT oder LTT) untersucht werden. Nur der ITT ermöglicht allerdings auch einen Einblick in die Funktion und ggf. die Aktivierung einzelner T-Zelluntergruppen unter BRM-Zugabe. Dazu kommt, dass Immunmodulatoren die Zytokinaktivität von T-Zellen aktivieren können, auch ohne die Proliferation in Gang zu setzen, was im LTT unerkant bliebe.

Das Basisprogramm einer Immunmodulator-Testung beinhaltet die Inkubation der Patientenzellen mit einer BRM-Konzentrationsreihe und die Testung von IL-2, IL-10, IFN γ und TNF α . Ein erweitertes Profil wird ergänzt um Zytokine wie IL-17, TGF β und IL-1 β .

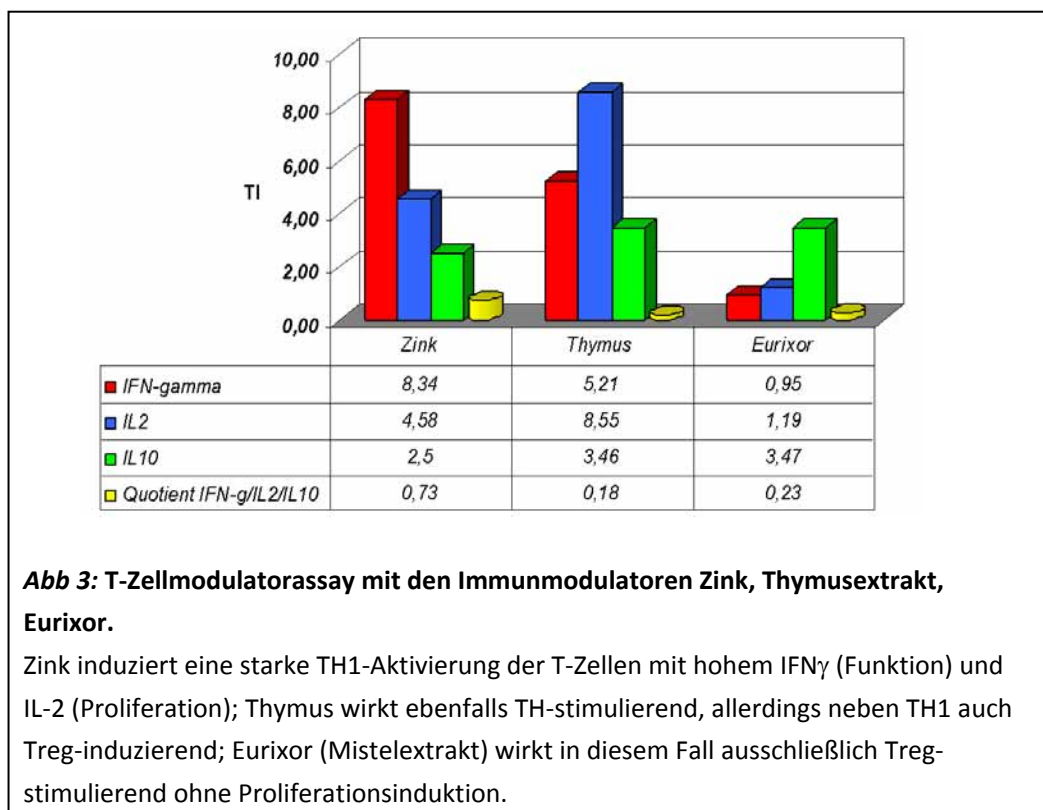


Abb 3: T-Zellmodulatorassay mit den Immunmodulatoren Zink, Thymusextrakt, Eurixor.

Zink induziert eine starke TH1-Aktivierung der T-Zellen mit hohem IFN γ (Funktion) und IL-2 (Proliferation); Thymus wirkt ebenfalls TH-stimulierend, allerdings neben TH1 auch Treg-induzierend; Eurixor (Mistelextrakt) wirkt in diesem Fall ausschließlich Treg-stimulierend ohne Proliferationsinduktion.

NK-Zellfunktion

Die NK-Zellfunktion ist nicht über die Bestimmung der Zellzahl im Blut feststellbar, da diese nicht mit der Aktivität oder Zytotoxizität korreliert. Für die Funktionsanalyse kommt der seit vielen Jahren bewährte Zytotoxizitätsassay in Betracht.

Patienten-PBMC werden 8 – 20 h mit markierten Targetzellen (Tumorzellen) inkubiert und anschließend der Anteil abgetöteter Targetzellen als Maß der zytotoxischen Aktivität im Durchflusszytometer bestimmt. Als Targetzellen werden in der Regel die MHC-negativen K562-Lymphomzellen verwendet, da sie im Unterschied zu anderen Tumorzellen in jedem Fall für NK-Zellen als fremd erkennbar sind.

Neben der basalen Abtötungsrate wird die Stimulierbarkeit der NK-Zytotoxizität durch physiologische Mediatoren wie IL-2 oder IFN γ gemessen. Außer der Zytotoxizität kann auch die Induzierbarkeit der Expression des frühen lymphozytären Aktivierungsantigens CD69 als Funktionsmarker herangezogen werden.

NK-Zell-Modulator-Assay

Die Wirkung von BRM auf die NK-Zellaktivität wird mit den beschriebenen Funktionsassays analysiert. Der Zytotoxizitätstest liefert die weitestgehende Information, ist jedoch aufwendig. Der einfachere Test der CD69-Expression liefert eine zwar wichtige aber nur Teilinformation, denn Aktivierung der Zellen bedeutet nicht zwangsläufig auch Steigerung der Zytotoxizität.

Patientenzellen werden mit dem zu untersuchenden Modulator und ggf. den markierten Targetzellen inkubiert und anschließend der Modulatoreffekt nach Abzug der basalen Aktivität kalkuliert.

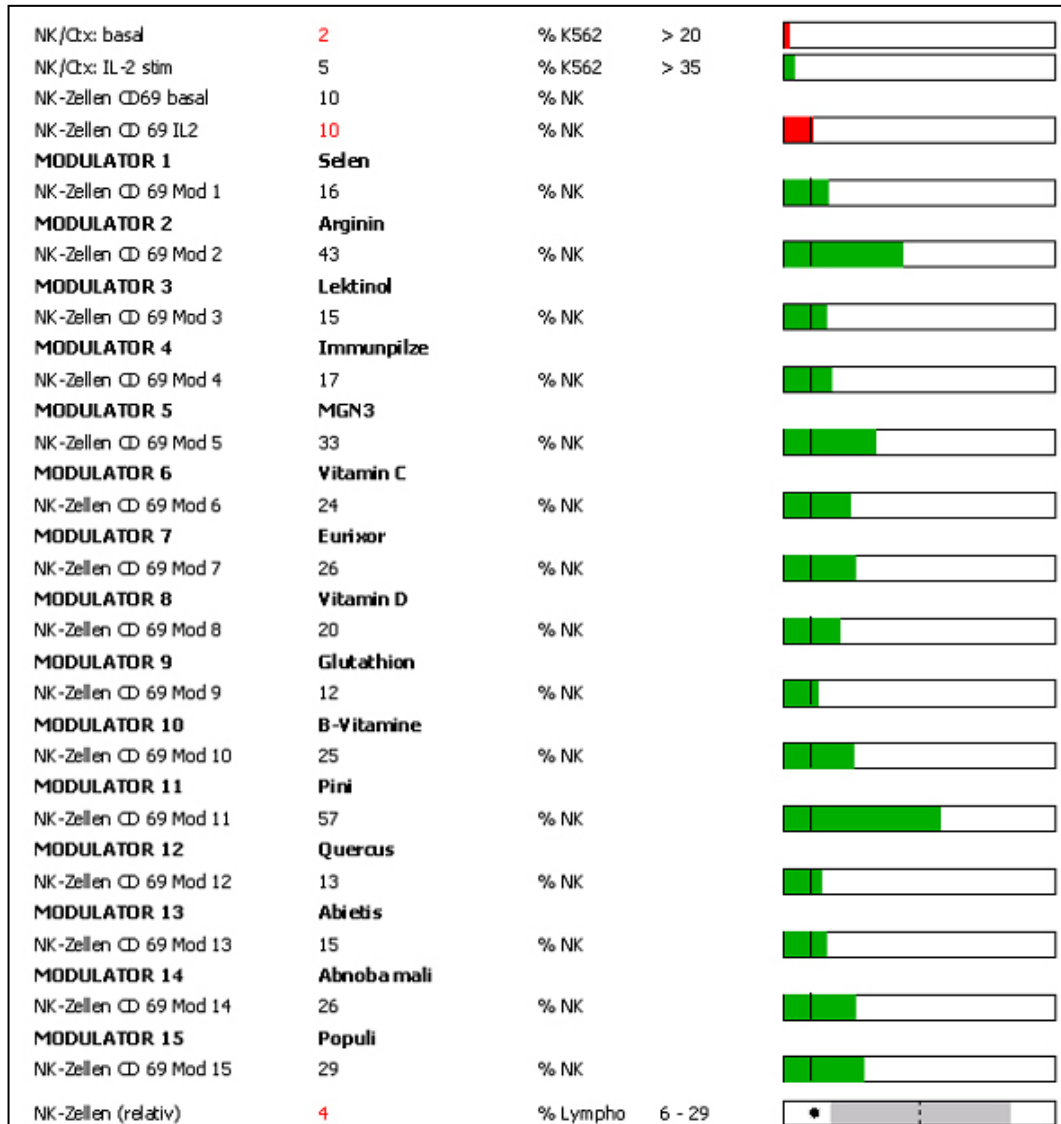


Abb. 4: NK-Zell-Modulator-Assay:

In den oberen vier Zeilen sind Kontrollen dargestellt. Zum einen wurde die basale und Interleukin-2-stimulierte NK-Zell-Zytotoxizität gemessen. Beide Werte sind mit 2 % bzw. 5 % gegenüber dem Normalwert von > 20 % bzw. > 25 % deutlich erniedrigt. Darüber hinaus wurde die basale und Interleukin-2-stimulierte Expression des Oberflächenmarkers CD69 getestet; CD69 ist ein Marker die Aktivierung von NK-Zellen. Hier findet sich kein Unterschied zwischen nichtstimulierten und Interleukin-2-stimulierten NK-Zellen.

Danach ist die CD69-Expression in Gegenwart verschiedener Immunstimulantien dargestellt. Es zeigt sich eine besonders ausgeprägte Steigerung der CD69-Expression in Gegenwart von Arginin, MGN3, Pini, Abnoba mali und Populi.

In der letzten Zeile ist eine relative Analyse der NK Zellen in Prozent der Lymphozyten-Population gezeigt. Mit 4 % ist der Anteil der NK-Zellen deutlich erniedrigt.

Immunprofil

Der zelluläre Immunstatus ist nach wie vor der am meisten angewendete Test zur Feststellung der Immunkompetenz. Im Durchflusszytometer können die Immunzell-Populationen über ihr typisches Oberflächen-Antigenprofil eindeutig identifiziert und quantifiziert werden. **Die gemessenen Zellzahlen korrelieren jedoch nicht mit der Funktion der Zellen und der klinischen Situation.**

In den letzten Jahren haben sich die Einsatzmöglichkeiten der Durchflusszytometrie erweitert. Da die meisten Immunzellen ihr Oberflächenmuster abhängig vom Funktionszustand ändern, kann über bestimmte Oberflächenmarker, der Anteil akut oder chronisch aktivierter Zellen ermittelt werden.

Aktivierte T-Zellen exprimieren z.B. für einige Tage das CD69-Molekül, bei länger andauernder Aktivierung vermehrt CD25, CD38 oder MHC-Moleküle (HLADR oder bei CD4-Zellen).

Die Immunzell-Populationen können weiter differenziert werden: $\alpha\beta$ - oder $\gamma\delta$ -TZellen; T_H17 -Zellen, Treg oder NKT-Zellen; unreife $CD4^+/CD8^+$ -Zellen; naive (CD45RA) und Memory (CD45RO) CD4- oder CD8-Zellen; die Expression kostimulatorischer Faktoren (CD28, CD80, CD86), etc.

Auch NK-Zellen können nicht nur identifiziert, sie können auch in zytotoxische und regulative NK-Zellen differenziert werden. Kompetente NK-Zellen weisen die verschiedenen inhibitorischen und aktivierenden Rezeptoren wie NKp30, NKp46, NKp80 und den „Killing“-rezeptor NKG2D (MHC-Erkennung auf Targetzellen) auf, außerdem CD16 (ADCC) und FasL (Apoptose). Aktivierte NK-Zellen sind u.a. durch die verstärkte Expression von CD69, CD25 (IL-2 Rezeptor) oder NKG2D gekennzeichnet.

Im Hinblick auf die Testung von Immunmodulator-Effekten bietet sich das Immunprofil für in vivo Langzeit-Beobachtungen an.

Immunmodulatoren

In jedem Fall sollte bei Patienten, für die eine Immuntherapie geplant wird, eine möglichst detaillierte Immundiagnostik erfolgen, durch die der Funktionszustand und das Aktivitätsniveau der Immunkompartimente charakterisiert wird. Dazu gehört außerdem die Messung der basalen immunologisch wichtigen Funktionsparameter:

I. Basal

Blutbild, Zink (Vollblut/VB), Selen (VB), Calcium (S/VB), Magnesium (VB), Eisen (Ferritin), Vitamin B2, B6, B12 (ggf. Holo-Transcobalamin oder Methymalonat), Folsäure (VB), Vitamin D3, TSH, Cortisol (ACTH), DHEAS, Glutathion (zellulär)

II. Immunstatus

Immunprofil mit CD3 CD4, CD8, ev. $\gamma\delta$ -TZellen, CD19, CD28 (ev. CD80/86); HLADR, CD38, CD25, Foxp3, CCR6, CD45RA/RO; CD19; CD56/57; CD16.

T-Zellfunktion in vitro (ITT): Zytokine IL-2, IL-10, IFN γ , TNF α , ev. IL-17, IL-4, IL-12, TGF β , basal und stimuliert;

NK-Zellfunktion in vitro: Zytotoxizität, CD69-Expression basal, stimuliert;

Serum-Marker: CRP, IL-6, TGF β , IL-10, ev. sIL2r, IP-10, Neopterin

Die Zahl der Immunmodulatoren, für die hinreichend detaillierte wissenschaftliche Daten vorliegen, um sie effektiv in der Immunmodulation einzusetzen, ist begrenzt. In vielen Fällen muss man auf Modulatorassays der T- oder NK-Zellen zurückgreifen, um die Wirksamkeit der Modulatoren im individuellen Fall festzustellen. Dafür stehen aus Zeitgründen im Regelfall nur die in-vitro Verfahren zu Verfügung, bei denen Langzeiteffekte der Modulatoren natürlich nicht erfassbar sind.

III. Modulatorassays

T-Zellmodulatorassay: ITT mit IL-2, IL-10, IFN γ , TNF α oder IL-1 β , evtl. IL17 – basal und mit Modulatorzusatz;

NK-Modulatorassay: Zytotoxizität (K562) und CD69-Expression basal und mit Modulatorzusatz

Eine Auswahl bekannter Immunmodulatoren

AHCC (Active Hexose Correlated Compound) ist ein Pilzextrakt (Basidiomycetes), der in klinischen Studien Wirksamkeit gegen verschiedene Tumoren bewiesen hat. 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, IFN γ) als auch die NK-Zytotoxizität verbessert (Terakawa, 2007).

Astragalus (*Astragalus membranaceus*), Tragant, hat vor allem anti-entzündliche Wirkungen. Durch Hemmung von NF- κ B wird die Produktion pro-entzündlicher Zytokine gebremst, Triterpene aus *Astragalus* wirken antioxidativ, anti-entzündlich und stimulieren die IL2-Produktion. Außerdem werden in geringem Umfang CD8-Zellen (stärker als CD4-Zellen) und dendritische Zellen aktiviert. Bei Tumorpatienten wird die T-Zellaktivität wiederhergestellt. Klinisch wurden, allerdings nur in kleinen Studien, neben den anti-entzündlichen auch antivirale und Antitumor-Effekte festgestellt (Brush, 2006).

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 TH0-TH1-Differenzierung, die IFN γ -Sekretion, hemmt die *Treg*-Aktivität und blockiert IL-10 und TGF β , steigert die zytotoxische Aktivität von T- und NK-Zellen (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).

Cordyceps, *C. sinensis*, ein Pilz aus Tibet ist seit über 2000 Jahren wegen seiner medizinischen Wirkungen bekannt. Der Polysaccharidextrakt hat, möglicherweise durch Steigerung der zellulären ATP Bildung, deutliche Fatigue-senkende Wirkung. Immunmodulatorische Effekte betreffen die Aktivierung von Makrophagen (IL-6, GM-CSF) und Immunsuppression nach Organtransplantation. Außerdem werden Nebenwirkungen bei Chemo/Radiotherapie deutlich gesenkt.

Curcumin, der aktive Bestandteil von *Curcuma longa* (Gelbwurz) gehört zu den am intensivsten wissenschaftlich geprüften Naturstoffen. Inzwischen liegen einige klinische Studien vor, die die ausgeprägten antientzündlichen, antioxidativen, immunstimulierenden, chemopräventiven und chemotherapeutischen Eigenschaften von Curcumin zeigen (Hatcher, 2008).

Die antientzündlichen Effekte von Curcumin sind vielfältig. Es hemmt NF-kB, die 5LOX-, COX2- und iNOS-Aktivierung, die Produktion der proentzündlichen Zytokine IL-1 β , IL-8, IL-6, IL-12, und von PGE₂, etc. In der Chemoprävention blockiert Curcumin Initialschritte der Carcinogenese, hemmt die Carcinogenaktivierung durch Induktion von Entgiftungs-Enzymen (Glutathiontransferasen) und hemmt die Tumorprogression durch Aktivierung von Apoptose (Bcl-Blockade, Bax/p53-Induktion), Antiangiogenese und Hemmung von Wachstumsfaktoren. Als Adjuvans in der Tumorthherapie potenziert Curcumin zum Teil die Wirkung von Chemotherapeutika und bremst die Entwicklung von Therapie-Nebenwirkungen.

DHEA hat einige immunmodulatorische Effekte, die näher untersucht sind. Es wirkt wie Cortisol, allerdings erheblich schwächer antientzündlich durch Hemmung von NF- κ B und proinflammatorischen Zytokinen (IL-1, IL-6, TNF α). Es stimuliert - zumindest in-vitro - die IL2-Sekretion, die Proliferation von T-Zellen und die IFN γ -Synthese. Insbesondere steigert DHEA die NK-Zytotoxizität (evtl. indirekt durch Induktion von IGF-I in NK-Zellen selbst (Bauer, 2009).

Echinacea (*E. purpurea*) aktiviert vor allem CD8-Zellen, weniger deutlich CD4-Zellen. In klinischen Untersuchungen haben verschiedene Echinacea-Arten (*E. pallida*, *E. augustifolia*) zum Teile Erfolge bei Atemwegsinfektionen gezeigt, in anderen Studien jedoch nicht.

Glutamin wird in großer Menge von Immunzellen verbraucht, u.a. zur Energiegewinnung durch Glutaminolyse und für die Synthese von Nukleotiden. Glutamin hat sich als wichtig für die Aufrechterhaltung der Immunfunktion erwiesen.

Glutaminmangel ist maßgeblich verantwortlich für den Immundefekt beim „Overtraining“-Syndrom. Glutamin stimuliert die IL1-Synthese in Monozyten/-Makrophagen, die IL2-Produktion und die T-Zellproliferation (Calder, 1994).

Glycyrrhiza (*G. glabra*; Süßholz) hat kaum dokumentierte immunmodulatorische Effekte. Es stimuliert geringfügig die nativen Immunzellen einschließlich NK-Zellen, hat dagegen keine Wirkung auf T-Zellen.

Glutathion (GSH) hat in seiner Eigenschaft als wichtigstes zelluläres Antioxidans und Redox-Stabilisator auch für die Immunabwehr besondere Bedeutung. Es reguliert die Aktivität des zellulären „Entzündungsschalters“ NF- κ B und wirkt stark antientzündlich.

Da die Synthese der ζ -Komponente des TCR sehr oxidationsempfindlich ist wird bei GSH-Mangel die T-Zellrezeptorfunktion beeinträchtigt. Andererseits wird durch Hemmung kostimulatorischer Zytokinsignale die T-Zellaktivierung reguliert. GSH wirkt daher immunregulierend und Autoimmunitäts-hemmend.

Bei GSH-Mangel kommt es bei T-Zellen zum Funktionsshift vom T_H1- zum T_H2-Typ.

Durch orale Gabe von Cystein bzw. **N-Acetylcystein** kann GSH intrazellulär aufgebaut werden, während das GSH selbst als Tripeptid nicht ins Zellinnere gelangt und zuvor extrazellulär abgebaut wird (Perricone, 2009). NAC wirkt als GSH-Vorstufe, allerdings auch selbst antientzündlich und T-Zell-aktivierend. Auch das Dimere *Cystin* verbessert die Antigen-Antwort von T- und B-Zellen, steigert die Antikörperproduktion z.B. nach Impfung und wirkt zusammen mit *L-Theanin* stark antientzündlich.

Impfung Sowohl die Influenzaimpfung als auch die VZV/Zosterimpfung haben starke Boostereffekte auf die T-Zellfunktion, die nicht nur die Impf-Viren sondern die T-Zellimmunität allgemein betreffen. Die T-Zellproliferation wird um ein Mehrfaches gesteigert, die IFN γ -Synthese erhöht (Weksler, 2009).

Kalorienrestriktion (CR) wirkt vor allem bei Übergewichtigen ebenfalls immunaktivierend. Bei 30% CR wurde gezeigt, dass die IL-2 Synthese und die Zytotoxizität der T-Zellen ansteigen, die Proliferationsrate sich verbessert und die Produktion des T-Zellsuppressors und Entzündungspromotors Prostaglandin E2 gehemmt wird.

Kolostrum enthält eine Vielzahl von immunaktiven Substanzen, die auch beim Menschen wegen ihrer (fast) völligen genetischen Identität wirksam sind. Es stimuliert in erster Linie die native Immunabwehr, steigert Chemotaxis, Superoxidproduktion und Zytokinsekretion, was die antibakterielle Resistenz erhöht.

MGN-3 (Arabinoxylan aus Reiskleie) ist vereinzelt in-vitro und in-vivo untersucht worden und scheint deutliche T- und NK-Zell-aktivierende Eigenschaften zu haben. Es stimuliert die Zytotoxizität von T- und NK-Zellen, steigert die Apoptose von Tumorzellen und hat antioxidative, antientzündliche Eigenschaften durch Stimulation antioxidativer Enzymsysteme (Badr El-Din, 2008).

Neuroimmunfaktoren: Neurotransmitter wie Serotonin, Nor/Adrenalin, Dopamin, GABA, Glutamat, Acetylcholin werden zum Teil von Monozyten und T-Zellen synthetisiert, aktiv über Transportersysteme aufgenommen bzw. über spezifische Rezeptoren gebunden. Sie alle verfügen über immunmodulatorische Eigenschaften.

GABA (gamma-Aminobuttersäure): Der Neurotransmitter **GABA** hemmt in niedriger physiologischer Konzentration die Proliferation aktivierter T-Zellen, in höherer Konzentration die Aktivität proinflammatorischer CD4-Zellen, zytotoxischer CD8-Zellen über spezifische GABA-Rezeptoren.

Glutamat wirkt über spezifische NMDA-Rezeptoren auf Lymphozyten immunsuppressiv, senkt die IL2-Bildung in „naiven“ T-Zellen, wirkt antiproliferativ und hemmt die Aktivität und IFN γ -Synthese von T- und NK-Zellen, stimuliert jedoch die Aktivität Antigen-reaktiver T-Zellen über den metabotropen Glu-Rezeptor 1, steigert die Proliferationsrate und die TH1-Zytokinsekretion (Pacheko, 2006).

Serotonin (5HT) fördert die Spezialisierung von Monozyten zu dendritischen Zellen, die verstärkt IL-10 produzieren und deren APC-Effizienz und T_H-stimulierende Eigenschaften reduziert sind, da die MHC II-Expression und das kostimulatorische CD86 und CD1 vermindert sind.

5HT und seine Vorstufe **5HTP** (5-Hydroxytryptophan) hemmen die Proliferation aktivierter CD4- und CD8-Zellen und wirken durch Suppression des Cyclooxygenase-Prostaglandin(PGE₂)-Weges stark antientzündlich.

Antidepressiva vom **SSRI**-Typ (Spezifische Serotonin-Reuptake Inhibitoren), trizyklische AD's oder auch **Lithium** hemmen ebenfalls die T-Zellproliferation und wirken antiinflammatorisch.

Melatonin wird bei Dunkelheit in der Epiphyse aus Serotonin gebildet. Es kommt außerdem in der Retina, im Gastrointestinaltrakt und der Niere vor. Auch Immunzellen sind in der Lage, Melatonin zu synthetisieren. CD4-, CD8-Zellen und B-Zellen haben Melatoninrezeptoren. Melatonin hat zahlreiche immunmodulatorische Wirkungen. Es stimuliert die Immunzell-Bildung im Knochenmark, steigert die Aktivität von nativen Immunzellen, die Synthese von IL-12, TNF α , IL-1 β , stimuliert die T_H1-Differenzierung und IFN γ -Synthese und steigert die Proliferation von T-Zellen. Auch die NK-Zellaktivität wird stimuliert.

Vor allem aber wirkt Melatonin antientzündlich, was u.a. auf seine ROS/NOS-Scavenger-Fähigkeiten zurückzuführen ist. Melatonin gehört zu den wenigen Antioxidantien, die auch im oxidierten Zustand noch antioxidatives Potential besitzen. Darüber hinaus hemmt Melatonin auch direkt die NF-kB-Aktivität und blockiert die Synthese von COX2, iNOS und Prostaglandin. Schließlich stimuliert Melatonin unter bestimmten Bedingungen auch IL-4 und die T_H2-Reifung (Szczepanik, 2007).

Probiotika modulieren den NFkB-Reaktionsweg und tragen zur Toleranz gegenüber Nahrungsmittelantigenen bei (Lactobacillus plantarum; van Baarlen, 2009). Sie verbessern (Lactobacillus fermentans) die Mukosaimmunität, steigern die IgA-Synthese und die systemische Immunität mit starkem Anstieg von IFN γ , sowie deutlicher Steigerung von IL-12 und IL-4 (Cox, 2010).

Reishi (Lingh Zhi; Ganoderma lucidum) ist in China seit über 4000 Jahren als Langlebigkeitselixier geschätzt. Der Pilzextrakt hat antientzündliche, analgetische, chemopräventive, antibakterielle (Helicobacter), antivirale, schlaffördernde und Antitumor-Wirkungen. Polysaccharide aus Reishi stimulieren neben Makrophagen und B-Zellen die T-Zellproliferation, Zytokinsekretion (IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-2, IFN γ , ICAM-1) und vor allem die NK-Zytotoxizität (Wasser, 2005).

Resveratrol ist ein Phytoalexin, das in höheren Konzentrationen in der Schale von (roten) Trauben und in der chinesischen Heilpflanze *Polygonum cuspidatum* vorkommt. Resveratrol gehört zu den wirksamsten antientzündlichen Naturstoffen. Es hemmt den NFkB-Reaktionsweg durch Protektion des Inhibitors (I-kk), blockiert COX1 und COX2 und die Synthese proinflammatorischer Zytokine. Außerdem stimuliert es die NK-Zellaktivität.

Selen ist Bestandteil von 25 Selenoproteinen, die zum Teil auch maßgeblich sind für die Immunfunktion. Es stimuliert nachweislich die T-Zellproliferation und die Antikörperbildung. Bei Selenmangel sind sowohl das native als auch adaptive System funktionell eingeschränkt.

Shiitake (*Lentinus edodes*) ist seit über 1000 Jahren für seine medizinische Wirkung bekannt. Er wird heute wegen seiner anticarcinogenen und Antitumor-Wirkungen intensiver untersucht. Sein Hauptwirkstoff, das Polysaccharid Lentinan, hat breite immunstimulierende Effekte, aktiviert T_H-Zellen, B-Zellen, NK-Zellen und Makrophagen, steigert die Sekretion u.a. von IL-1, IL-2, IFN γ , TNF α . Auch antibakterielle, antivirale und antimykotische Wirkungen sind nachgewiesen (Wasser, 2005).

Vitamin C ist das wirksamste wasserlösliche Antioxidans. In dieser Eigenschaft hemmt es die Bildung von proentzündlichen Zytokinen und den NFkB – Cyclooxygenase - PgE₂ – Reaktionsablauf. Die Plasmahalbwertszeit von Vit C ist sehr kurz, sodass die orale Wirksamkeit begrenzt ist. In der Klinik zeigt die Infusion von Vitamin C in hohen Konzentrationen, durch die die intrazelluläre Vit C-Konzentration nachhaltig erhöht werden kann, antivirale und Antitumor-Effizienz. Einige Berichte zeigen außerdem, dass die Zytotoxizität von NK-Zellen verbessert werden kann. In hoher Konzentration wirkt Vitamin C pro-oxidativ, worauf seine zytotoxischen, anti-Tumor Eigenschaften zurückgeführt werden.

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

Vitamin D hat verschiedene, sehr wertvolle immunmodulatorische Effekte, die über spezifische Vitamin D-Rezeptoren auf Immunzellen umgesetzt werden. Vitamin D blockiert die Produktion von IL-12 und bremst die T_H1-Aktivierung, andererseits steigert es die Antigenantwort naiver T-Zellen um eine Mehrfaches (Rode van Essen, 2010). Naive T-Zellen reagieren bei erstem Antigenkontakt wesentlich langsamer als Antigen-getriggerte Zellen. Vitamin D stimuliert die TCR-Signalkette in T-Zellen, die im aktivierten Zustand den Vitamin D-Rezeptor exprimieren. Klinische Studien haben gezeigt, dass entsprechend Vitamin D die antivirale Immunität verbessert und zum anderen überschießende T-Zellaktivität und Autoimmunität hemmt.

Literatur

- Badr El-Din NK, Noaman E, Ghoneum M. In vivo tumor inhibitory effects of nutritional rice bran supplement MGN-3/Biobran on Ehrlich carcinoma-bearing mice. *Nutr Cancer* 2008;60(2):235-44
- Bauer ME, Jeckel CMM, Luz C. The role of stress factors during aging of the immune system. *Ann NY Acad Sci* 2009;1153:139-152
- Bonilla FA, Oettgen HC. Adaptive Immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:S33-S40
- Brush J, Mendenhall E, Guggenheim A, Chan T, Connelly E, Soumyanath A, Buresh R, Barrett R, Zwickey H. The effect of Echinacea purpurea, Astragalus membranaceus and Glycyrrhiza glabra on CD69 expression and immune cell activation in humans. *Phytother Res* 2006;20:687-95
- Calder PC. Review: Glutamine and the immune system. *Clin Nutrition* 1994;13:2-8
- Commins SP, Borish L, Steinke JW. Immunologic messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines. *J Allergy Clin Immunol* 2010;;125:S53-S72
- Cooper MA, Elliott JM, Keyel PA, Yang L, Carrero JA, Yokoyama WM. Cytokine-induced memory-like natural killer cells. *Proc Natl Acad Sci* 2009;106:1915-19
- Cox AJ, Pyne DB, Saunders PU, Fricker PA. Oral administration of the probiotic Lactobacillus fermentum VRI-003 and mucosal immunity in endurance athletes. *Br J Sports Med* 2010;44(4):222-226
- Delves PJ, Roitt IM. The immune system. Second of two parts. *New Engl J Med* 2000;343:108-117
- Evans DL, Lynch KG, Benton T, Dube B, Gettes DR, Tustin NB, Lai JP, Metzger D, Douglas SD. Selective serotonin reuptake inhibitor and substance P antagonist enhancement of natural killer cell innate immunity in HIV acquired immunodeficiency syndrome. *Biol Psychiatry* 2008;63:899-905
- Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti FM, Tort SV. Curcumin: From ancient medicine to current clinical trials. *Cell Mol Life Sci* 2008;65:1631–1652
- Larbi A, Franceschi C, Mazzatti D, Solana R, Wikby A, Pawelec G. Aging of the Immune System as a Prognostic Factor for Human Longevity. *Physiology* 2008;23:64-74
- 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

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

Pacheco R, Oliva H, Martinez-Navio JM, Climent N, Ciruela F, Gatell JM, Gallart T, Mallol J, Lluís C, Franco R. Glutamate Released by Dendritic Cells as a Novel Modulator of T Cell Activation. *J Immunol* 2006;177:6695–6704

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

Rode von Essen M, Kongsbak M, Schjerling P, Olgaard K, Ødum N, Geisler C. Vitamin D controls T cell antigen receptor signaling and activation of human T cells. *Nature Immunol* 2010;11(4):344-50

Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. 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.

Szczepanik M. Melatonin and its influence on immune system. *J Physiol Pharmacol* 2007;58(S5):115-124

Terakawa N, Matsui Y, Sato S, Yanagimoto H, Takahashi K, Yamamoto T, Yamao J, Takai S, Hon

Kwon A, Y Kamiyama. Immunological Effect of Active Hexose Correlated Compound (AHCC) in healthy Volunteers: A Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Nutr Cancer* 2008;60(5):643–651

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

Wasser SP, in *Encyclopedia of Dietary Supplements*, 2005: M Decker, NewYork

Weksler ME, Pawelec G, Franceschi C. Immune therapy for age-related diseases. *Trends Immunol* 2009;30:344-350