

2. Literaturübersicht

2.1 Haut

Die Haut des Pferdes ist als äußere Körperhülle aufgebaut wie bei anderen Säugetieren: nämlich aus Oberhaut (Epidermis; epitheliale Schicht), Lederhaut (Dermis, Corium) sowie Unterhaut (Subcutis; Tela subcutanea).

Die Oberhaut selbst ist mehrschichtig, wobei das Stratum germinativum die basale Keimschicht darstellt, von der aus durch zyklische Erneuerung die Keratinozyten (als Stratum granulosum, Stratum lucidum und Stratum corneum), die oberflächlich verhornen, abgeschilfert und nachgebildet werden. Das Stratum germinativum liegt mit seinen iso- bis hochprismatischen Zellen als Stratum basale der Basalmembran eng an und ist über Semidesmosomen mit dieser fest verbunden. Neben den Keratinozyten sind in der Epidermis noch andere Zellen (Melanozyten, Langerhans-Zellen, Merkelzellen (Tastzellen)) eingelagert.

Das Stratum papillare der Dermis liegt unmittelbar unter der Epidermis. Um seinen verschiedenen Aufgaben (mechanisch, sensorisch-sensible, immunologisch, usw.) gerecht zu werden, ist es stark mikrovaskularisiert sowie vegetativ innerviert. Es setzt sich aus lockerem Bindegewebe zusammen, in welchem Lymphozyten, Plasmazellen, sowie ortsständigen Makrophagen und Mastzellen vorkommen.

Das sich anschließende Stratum reticulare ist ein straffes, faserreiches und zellarmes Bindegewebe, in dem meist kleine Arterien und Venen (jedoch sehr wenige) eingelagert sind.

Die Unterhaut (Subcutis; Tela subcutanea) ist ein lockeres, unregelmäßig angeordnetes Bindegewebe, das die Haut mit den Faszien oder der Muskulatur verbindet.

Tumoren insgesamt sind beim Pferd sehr selten. Wie eine Studie von zwölf nordamerikanischen und kanadischen Universitäten feststellte beträgt die durchschnittliche Tumorinzidenz 1,42% (Priester and Mantel 1971).

2.2 Hauttumoren beim Pferd

Die wichtigsten Hauttumoren des Pferdes sind die equinen Sarkoide, die Papillome, die Melanome, die Plattenepithelkarzinome und die Fibrosarkome (Goldschmidt et al. 1998; Meuten 2002).

Darüberhinaus werden in der Literatur kutane Lymphosarkome, Hämangiome und Hämangiosarkome, Mastzelltumore sowie Basalzelltumore der Haut beschrieben (Rutgers et al. 1979; Schuh and Valentine 1987; McEntee 1991; Riley et al. 1991; Johnson et al. 1996; Potter and Anez 1998; McClure et al. 2001; Slovis et al. 2001; Flaminio et al. 2004).

2.2.1 Equines Sarkoid

Mit einer Häufigkeit von 12,9% bis 67% (Strafuss et al. 1973; Sullins et al. 1986) ist das equine Sarkoid der bei Pferden, Eseln und Maultieren am häufigsten auftretende Hauttumor (Cotchin 1960; Ragland 1970; Strafuss et al. 1973; Sullins et al. 1986). Wegen ihrer starken Neigung zu postoperativer Rezidivbildung gelten Sarkoide als semimaligne, obwohl eine Metastasierung in andere Organe nicht stattfindet (Weiss 1990). Einige equine Sarkoide haben eine geringe Wachstumsrate, wobei andere schnell und aggressiv (Voss 1969; Ragland 1970; Lane 1977; Broström et al. 1988; Broström 1995; Broström et al. 1996) wachsen.

Equine Sarkoide sind fibroblastische Tumore, die makroskopisch Warzen oder überschießendem Granulationsgewebe ähneln, und histologisch epidermale mit fibroblastischen Proliferationen verbinden. Gemeinsam ist allen equinen Sarkoiden, daß histologisch sowohl eine epidermale als auch eine dermale Komponente existiert, wobei es zur Akanthose und Hyperkeratose kommen kann. Charakteristisch sind pseudoepitheliomatöse Hyperplasien mit epithelialer zapfenartiger Ausbreitung in den tieferen Schichten. Die dermalen Komponenten bestehen aus spindelförmigen Fibroblasten, die eine „fischschwarmartige“ Gewebestruktur mit z.T. elongierten Nuklei und fokaler Mitoseaktivität bilden. Jackson führte bereits 1936 den Begriff des equinen Sarkoids ein, um diese Tumorart von anderen bindegewebe-enthaltenen Tumoren wie z.B. dem (Fibro-) Papillom, Fibrom, Fibrosarkom und dem Granulom zu differenzieren (1936).

Literaturübersicht

Ragland et al. (1970) wie auch Teifke (1994) differenzieren zwischen einem verrukösen (Typ I), einem fibroblastischen (Typ II) und einem Mischtyp (Typ III), die alle der Hautoberfläche breit aufsitzen oder gestielt vorkommen.

Der verruköse Typ (Typ I) stellt sich makroskopisch als eine deutliche warzenförmige Neubildung mit krustösen und z.T. ulzerierender Oberfläche dar. Diese ist durch eine Hyperkeratose grau-weiß, asbestartig verfärbt. Die Schnittfläche weist einen gefächerten Aufbau mit papillomatösen Zapfen auf. Der fibroblastische Typ (Typ II) ist klassifiziert als ein von intakter Haut bedeckter, subkutaner Knoten. Seine Schnittfläche ist gelblich-weiß, strahlig gefiedert und von muzinöser Konsistenz. Der dritte Typ (Mischtyp) ist häufig oberflächlich ulzeriert und hyperkeratinisiert bei darunter gelegentlichem bindegewebigen Anteil.

Ein vierter Typ (Typ IV) wird von Pascoe und Summers (1981) beschrieben. Dieser besteht aus ca. 5-15 mm großen, haarlosen Hautpartien mit einem oder mehreren kleinen, gut abgrenzbaren Tumoren und zeichnet sich durch ein langsames Wachstum aus. Er wird auch als okkult Typ bezeichnet, der sich durch eine verdickte Haut mit rauher Oberfläche, welche teilweise haarlos ist, auszeichnet (Tarwid 1985).

Diehl (1987) variiert auf Grund klinischer Erscheinungsbilder, jedoch ohne histologische Korrelate, diese Klassifizierung wie folgt: Der Typ I stellt eine flache, haarlose Hautveränderung mit leichter bis mäßiger Hyperkeratose dar. Der Typ II ist verrukös erhaben und besitzt eine breite Basis mit starker Hyperkeratose. Typ III wird als subkutan gut abgrenzbarer Knoten bei intakter Haut beschrieben. Eine knotig erhabene, der Basis breit oder gestielt aufsitzende, mit ulzerierender Oberfläche beschriebene Hautveränderung wird als Typ IV klassifiziert.

Ätiologisch werden unterschiedliche virale Infektionen diskutiert, wobei in den meisten Veröffentlichungen von der Beteiligung des bovinen Papillomavirus (Olson 1951; Ragland and Spencer 1968; Ragland and Spencer 1969; Voss 1969; Trenfield et al. 1985; Angelos et al. 1991; Teifke and Weiss 1991; Marti et al. 1993; Teifke 1994) ausgegangen wird. Daneben werden allerdings auch ein equines Papillomavirus (EPV) (Trenfield et al. 1985) und ein Retrovirus vom C-Typ (Cheevers et al. 1982; Fatemi-Nainie et al. 1982; Fatemi-Nainie et al. 1984; Cheevers et al.

1986) genannt. Darüberhinaus wird auch eine erbliche Disposition diskutiert (Lazary et al. 1985; Meredith et al. 1986; Gerber 1989; Lazary et al. 1994).

2.2.2 Papillom

Das benigne Papillom ist eine exophytisch wachsende Proliferation des Plattenepithels, meist nach Infektion mit Papillomaviren. Das „typische“ Papillom ist eine ca. 1 bis 2 cm große warzenförmige Hautveränderung mit dünnen dermalen Stielen (Goldschmidt et al. 1998).

Charakteristisch ist eine epidermale Hyperplasie mit papillärer Unterstützung durch dermales fibrovasculäres Stroma, das oft mit prominenten, dilatierten Kapillaren durchzogen ist. Das darüber liegende Stratum corneum kann hyperkeratotisch oder parakeratotisch sein, wobei die granuläre Schicht häufig stark ausgebildet ist. Diese Keratohyalingranula sind oft sehr groß, rund oder irregulär. Koilocyten (vergrößerte Keratinozyten mit exzentrischem, pyknotischem Kern umgeben von einem weiten, klaren Hof) können im Stratum spinosum und deren „Geister“ (Zellreste) im Stratum corneum aufgefunden werden. Das Stratum spinosum ist hyperplastisch und das normale eosinophile Zytoplasma ist durch ein blasses basophiles Zytoplasma ersetzt, was dem viralen zytopathologischen Effekt des Virus zugeschrieben wird. Diese Zellen weisen häufig blasse intranukleäre basophile (virale) Einschlusskörperchen auf. Gelegentlich finden sich auch kleine intranukleäre eosinophile Einschlüsse und intrazytoplasmatisches eosinophiles Material, das aus Keratinaggregaten besteht. Verlängerten Rete-Zapfen aus der Peripherie des Tumors sind ins Zentrum gerichtet (Hamada and Itakura 1990; Hamada et al. 1990; Meuten 2002).

2.2.3 Melanom

Benigne Melanome können junctional, d.h. heißt am Übergang Epidermis zur Dermis, dermal oder epidermal-dermal („compound“) wachsen und bestehen aus spindeligen bis epitheloiden Zellen, die unterschiedliche Mengen an Melanin aufweisen. Nester dieser Zellen können durch feine bindegewebige Septen zur Umgebung abgegrenzt werden.

Maligne Melanome zeigen häufig ein wild verwobenes, wirbeliges oder „nestartiges“ Wachstum. Auch Kombinationen aus den verschiedenen Wuchsformen sind möglich. Insbesondere subunguale maligne Melanome weisen eine ausgeprägte intraepidermale Komponente auf. Maligne Zellen haben oft einen größeren, prominenteren Nukleulus als ihre benignen Gegenstücke, sind häufig anaplastisch, neigen zum Verlust der Melaninbildung und weisen deutlich höhere Mitoseraten auf. Gelegentlich erscheinen Tumorzellen balloniert und selten bilden sich chondroide oder osteoide Metaplasien aus (Valentine 1995; Goldschmidt et al. 1998; Fleury et al. 2000; Fleury et al. 2000; Smith et al. 2002).

Beim Pferd treten meist multiple Melanome vorwiegend im Bereich der Perineums, der ventralen Schwanzwurzel, des Genitaltraktes, der Parotisregion und an anderen Stellen auf. Die Inzidenz wird in der Literatur von 6% (Head 1953) bis 15% (Cotchin 1960) angegeben, wobei vor allem graue Pferde über 6 Jahren, sowie Araber (Lerner and Cage 1973) betroffen sind.

Das maligne Melanom metastasiert sehr häufig über die Lymphbahnen oder das Blut in die regionalen Lymphknoten resp. in die Lunge, wodurch seine Dignität bestimmt wird.

2.2.4 Plattenepithelkarzinom

Plattenepithelkarzinome der Haut bestehen aus inselförmigen, strangartigen und trabekulären invasiv-wachsenden epithelialen Zellen, die fast immer in Kontakt zur oberflächlichen Epidermis stehen, wo sie die Basalmembran durchbrochen haben. Häufig findet man Formationen aus „Hornperlen“ (konzentrische Lamellen aus Keratin im Tumor) innerhalb invasiv-wachsender neoplastischer Zellen. In den meisten Plattenepithelkarzinomen sind interzelluläre „Brücken“ (gap junctions) erkennbar. Das zytologische Bild der Tumorzelle ist variabel und abhängig vom Grad ihrer Differenzierung. In vielen Exemplaren sind die Zellen und ihre Nuklei sehr groß, die Nuklei sind hyperchromatisch und das Chromatin erscheint oft „geklumpt“. Die Nukleoli variieren stark in ihrer Größe und sind teilweise sehr prominent. Gut differenzierte Tumoren zeigen gut differenzierte Hornperlen, wobei schlechter differenzierte Tumoren nur vereinzelte Keratinisationen einzelner Zellen aufweisen

(Garma-Avina 1994). Häufig findet man reaktive Fibrosen in der umgebenden Dermis und dem subkutanen Gewebe als Reaktion auf die invasiven wachsenden Plattenepithelzellen. Zusätzlich werden zahlreiche Plasmazellen im Stroma gefunden. In einigen Tumoren, vornehmlich in Arealen mit Keratinisierung ist eine Infiltration mit neutrophilen Granulozyten nachweisbar.

Zusätzlich können zwei ungewöhnliche histologische Variationen des Plattenepithelkarzinoms auftreten:

a. Akantholytisches Plattenepithelkarzinom

Durch Dyshäsion und Degeneration von neoplastischen Zellen resultiert eine Zyste mit peripheren Schichten neoplastischer Zellen, die ein pseudogranuläres Material produzieren-

b. Spindelzell-Plattenepithelkarzinom

Neoplastische Zellen sind fusiform angeordnet, wobei lichtmikroskopisch eine Differenzierung zu Stromazellen schwierig ist. Cytokeratin-Färbungen sind häufig positiv und helfen hierdurch bei der Identifizierung dieser seltenen Tumorart als Plattenepithelkarzinom (Goldschmidt et al. 1998).

Das Plattenepithelkarzinom der Haut beim Pferd tritt vorzugweise an Vulva oder Penis sowie Augenlidern auf (Strafuss 1976).

2.2.5 Fibrosarkom

Dies ist ein maligner Fibroblastentumor mit variablem Kollagengehalt und verschiedenen Erscheinungsbildern. Der Tumor kann umschrieben oder infiltrativ, gut differenziert oder ausgesprochen anaplastisch wachsen. Er kommt meist fokal vor. Die spindelförmigen Tumorzellen sind typischerweise in Geflechtbündeln oder in „heringfischschwarm“-ähnlichen Mustern arrangiert. Die Zellen haben wenig Zytoplasma und längliche bis ovale Kerne mit einem unscheinbaren Nukleolus. Die Mitoseaktivität ist abhängig vom Differenzierungsgrad der Neoplasie. Der Tumor wächst infiltrativ und bildet häufig Rezidive, aber er metastasiert sehr selten (Goldschmidt et al. 1998).

Die Dignitätsbeurteilung beruht auf dem infiltrativen Wachstum, der Anaplasie sowie der Mitoserate (Bostock and Dye 1980).

2.3 Erkennen von Neoplasien durch das Immunsystem

Die beiden prinzipiellen Komponenten des Immunsystems – die angeborene („innate“) und die erworbene („adaptive“) Immunität – reagieren auf ein wie immer geartetes „Gefahrensignal“ (zum Konzept des „danger signalings“ siehe Matzinger (1994)) mit komplexen Reaktionsmustern.

Die eher unspezifischen Komponenten des angeborenen Immunsystems können zwischen normalen Geweben („selbst“) und neu gefunden Proteinen oder Zellen („nicht-selbst“) unterscheiden. Dadurch werden alle dem Immunsystem fremden Bestandteile, seien diese beispielsweise Produkte einer Infektion oder einer neoplastischen Zelltransformation, erkannt und durch Effektorzellen wie Makrophagen, dendritischen Zellen oder natural killer (NK) Zellen attackiert.

Die adaptive Immunität besteht aus einem spezifischeren und deutlich komplexeren System. Neue Antigene im Körper werden von spezifisch rezeptor-tragenden Immunzellen erkannt, wobei diese Immunzellen auf vielschichtige stimulierende und costimulierende Signale reagieren.

Beide Komponenten des Immunsystems können dabei an der Antwort auf eine maligne Zelltransformation beteiligt sein.

Zusammenhänge zwischen Immunsuppression und Infektionen und Neoplasien sind bei der Infektion mit dem „feline immunodeficiency virus“ (FIV) (Kidney et al. 2000; Gabor et al. 2001), bei einer Infektion mit dem feline Leukosevirus (FeLV) (de Lorimier et al. 2003; Sparkes 2003; Troxel et al. 2003), oder auch bei der Marek´schen Erkrankung bekannt (Barrow et al. 2003; Garcia-Camacho et al. 2003). Weitere Hinweise auf einen Einfluss des Immunsystems auf neoplastische Erkrankungen zeigen sich bei HIV-infizierten Patienten mit einem Acquired Immunodeficiency Syndrome. Hier werden gehäuft maligne Tumoren wie Kaposi-Sarkome und Lymphome beobachtet (Boshoff and Weiss 2002).

2.3.1 Tumorantigene

Idealerweise sollte ein Tumorantigen spezifische B- und/oder T-Zell-Reaktionen auslösen. Exprimieren Tumorzellen neben „selbst“-Antigenen, auch mutierte oder einzigartige neue Tumor-assoziierte Antigene (TAA), so können sie von T-Zellen

erkannt werden (Spiotto et al. 2003). TAAs können grob in fünf Kategorien eingeteilt werden (Tab. 1): Die erste Kategorie stellt tumorspezifische Antigene dar, die spezifisch in einem bestimmten Tumor hochreguliert werden und aus mutierten Proteinen (z.B. Caspasen, Kinasen) bestehen, welche von T-Zellen zusammen mit MHC-I- und MHC-II-Molekülen erkannt werden. Eine zweite Kategorie sind embryonale Antigene, die nach maligner Transformation wieder auftauchen, wie z.B. das CEA (Carzino-embryonales Antigen). Eine dritte Kategorie bilden Differenzierungs-Antigene, die sich aus der Gewebeherkunft der Neoplasie ergeben, beispielsweise Tyrosinase in Melanomen. Oncogene und Tumor-Suppressor-Gen-Produkte gehören zu einer weiteren Antigen-Kategorie, bei der bestimmte Epitope Immunantworten induzieren können. Schließlich können Virusprodukte in viral induzierten Tumoren T-Zellantworten hervorrufen.

Tab. 1 Beispiele Tumor-assoziiertes Antigene, die von T-Zellen erkannt werden

Kategorie	Antigen
Tumor-spezifische Antigene	Caspase 8 Mutierte Cyclin-abhängige Kinasen
Embryonale Antigene	CEA
Differenzierungs-Antigene	Tyrosinase gp100
Mutierte Tumor-Suppressor-Proteine Onkogen-Produkte	p53 BRCA Ras HER-2
Virale Antigene	Papillomvirus Retrovirus

2.3.2 Prinzipien der Tumorabwehr

Findet eine effektive Antigenerkennung durch spezialisierte Immunzellen statt oder werden Tumor-assoziierte Strukturen (TAA) von diesen erkannt, so sind zelluläre und humorale Mechanismen an der Abwehr beteiligt. Beide Mechanismen sind funktionell miteinander vernetzt. Zum einen werden CD4+ und CD8+ T-Lymphozyten spezifisch durch antigen-präsentierende Zellen stimuliert und andererseits produzieren B-Lymphozyten Antikörper gegen das Antigen. Beide Mechanismen führen zur Immunantwort gegen die antigene Zelle und letztlich zu deren Lyse.

2.4 Antigen-präsentierende Zellen (APCs)

Werden zytosolische Proteine einer Zelle als gefährlich erkannt, können APCs diese aufnehmen und dann durch intrazelluläre Proteosomen in Peptidfragmente spalten, die durch spezielle Peptidtransportmoleküle, sog. TAPs (transporter associated with antigen processing) in das endoplasmatische Retikulum geschleust werden (Heemels and Ploegh 1995; Ohnmacht and Marincola 2000; Reits et al. 2003). In diesem Kompartiment warten bereits „leere“ MHC-Klasse-I-Komplexe, die nach Bindung der Peptide an die Zelloberfläche transportiert werden (Lehner and Cresswell 1996). Dort werden diese Antigen-MHC-Komplexe auf den APCs von zirkulierenden Effektorzellen erkannt. Die APCs präsentieren im Idealfall ihr Antigen den CD8+ T-Zellen, gebunden in einer eigens dafür vorgesehenen Furche des MHC-Komplexes, wobei hinsichtlich der Effektorfunktionen v.a. Zytotoxizität ausgelöst wird.

Innerhalb der antigen-präsentierenden Zellen werden drei Untergruppen unterscheiden:

2.4.1 Makrophagen

Sie spielen in der angeborenen Immunantwort eine entscheidene Rolle. Makrophagen stellen die gereifte Form von Monozyten dar. Ihre Vorläufer zirkulieren im Blut und wandern in zahlreiche Gewebe ein. Durch Phagozytose werden Pathogene aufgenommen, in Peptidfragmente zersetzt und an ihrer Oberfläche präsentiert. Zusätzlich sezernieren sie als „aktivierte Makrophagen“ verschiedene Zytokine und Chemokine, wie Interleukine und Interferone, wodurch sie als Entzündungsinitiator gelten. Makrophagen sind essentiell für eine potentielle T-Zellantwort, da T-Zellen, anders als B-Zellen, nicht in der Lage sind, Antigene zu erkennen. Zusätzlich sind sie in der Lage, zellvermittelte Immunreaktionen durchzuführen oder durch eine sog. Opsonierung („Angreifbarmachung“) in die humorale Immunantwort einzugreifen.

2.4.2 Dendritische Zellen (DCs)

Der Medizinstudent Paul Langerhans entdeckte 1868 mittels einer Goldchloridfärbung eine neue Art von Zellen, die er als intraepidermal, vorwiegend

suprabasal lokalisierte, dendritisch geformte Zellen beschrieb, und dem Nervensystem zurechnete (1868). Diese Zellen wurden in der Folgezeit als Langerhans Zellen (LC) bezeichnet und gelten, sicherlich mitbedingt durch ihre günstige Erreichbarkeit in der Haut oder in den Lymphknoten, als die am besten untersuchten Zellen der dendritischen Zellfamilie (Wollenberg and Schuller 1999).

Dendritische Zellen (DCs) sind die wichtigsten antigenpräsentierenden Zellen. Sie präsentieren Antigen naiven T-Zellen und sind in der Lage, spezifische zytotoxische Zellen nach einem vorhergehenden Kontakt mit T-Helferzellen (Ridge et al. 1998) oder auch unmittelbar zu stimulieren (Inaba et al. 1987). Dendritische Zellen sind ubiquitär in verschiedensten Geweben vorhanden, sie sind unregelmäßig geformt und verfügen über lange dendritische Ausläufer (Steimle et al. 1993; Kurotaki et al. 2002). DCs stammen von noch nicht genau definierten Vorläuferzellen aus dem Knochenmark ab (Steinbach and Thiele 1993). Daneben werden lymphoide DCs beschrieben, die allerdings eine Sonderstellung einnehmen. DCs gelangen über das Blut als immature Zellen in die Gewebe, wo sie Antigene aufnehmen und prozessieren können, aber nur über geringe T-zellstimulierende Fähigkeiten verfügen. Nach Antigenkontakt migrieren sie in die afferente Lymphe, mit der sie in den Lymphknoten gelangen (das sogenannte „homing“). Hier sind sie als interdigitierende retikuläre Zellen in den T-Zellbereichen zu finden. Die jetzt „maturen“ DCs sind nicht mehr in der Lage, Antigene aufzunehmen und zu prozessieren, verfügen aber über eine stark hochregulierte Fähigkeit zur T-Zellstimulation. Eine mature dendritische Zelle ist in der Lage, mehrere tausend T-Zellen zu stimulieren, hierbei bilden sich stabile Cluster zwischen den DCs und den T-Zellen aus (Banchereau and Steinman 1998).

DCs sind befähigt, auch extrazellulär vorliegende Peptide an MHC-Klasse-I-Moleküle gebunden zu präsentieren. Für die Präsentation auf MHC-Klasse-II-Molekülen hingegen müssen die Antigene aufgenommen werden, damit sie nach einer Prozessierung präsentiert werden können (Wood et al. 1991; Egner et al. 1993; Fanger et al. 1996).

2.4.3 B-Zellen

Daneben sind auch B-Zellen in der Lage Antigene zu präsentieren, weshalb sie ebenfalls zur Gruppe der APCs zählen. B-Zellen sind an der adaptiven Immunität beteiligt, indem sie Peptide von aufgenommenen Antigenen präsentieren und Antikörper sezernieren. Sie werden im folgenden Kapitel der Lymphozyten genauer behandelt.

2.5 Antigen-reaktive Zellen

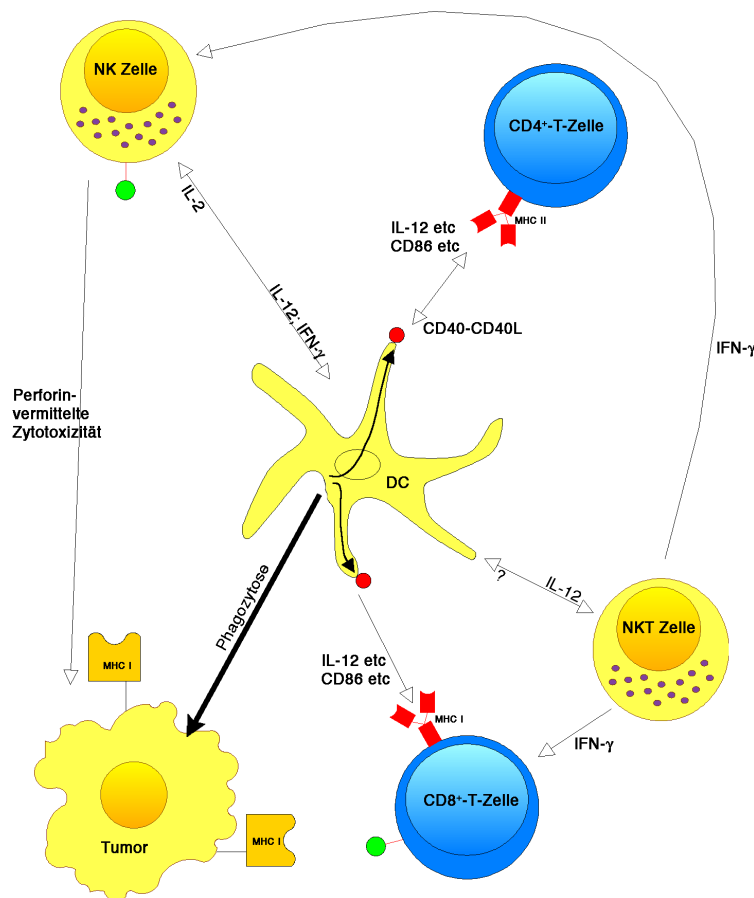


Abb. 1 Schematische Immunzellantwort modifiziert aus Turtle und Hart (Turtle and Hart 2004)

2.5.2 T-Lymphozyten

T-Zellen entwickeln sich im Thymus und gehören zum zellulären Immunitätsrepertoire eines Organismus. Jede T-Zelle, die den Thymus verläßt, hat T-Zellrezeptoren (TCR), ein Heterodimer aus meist α/β -, seltener γ/δ -Untereinheiten. Die T-Zellrezeptoruntereinheiten verbinden sich zu einem Cluster von 5 Polypeptiden und

bilden den sog. T-Zellrezeptor-Komplex. Das CD3-Antigen der T-Zellen besteht aus fünf Proteinketten, der CD3 α und CD3 β sowie der CD3- γ -, der CD3- δ - und der CD3- ϵ -Kette. Diese Ketten sind mit dem T-Zellrezeptor (TCR) verbunden und spielen eine wichtige Rolle in der Signaltransduktion vom TCR zu intrazytoplasmatischen Komponenten (van Dongen et al. 1987; van Dongen et al. 1988; Mason 2002). Clevers et al. (1988) postulieren das Vorhandensein einer zusätzlichen CD3- ζ -Kette. Das CD3-Antigen ist auf allen reifen T-Lymphozyten vorhanden.

Die unterschiedlichen Funktionen der T-Zellpopulationen zeigen sich durch unterschiedliche Oberflächen-Antigene und -Antigenrezeptoren.

2.5.2.1 CD4-positive T-Lymphozyten

Besitzen die Lymphozyten zusätzlich ein CD4-Antigen im T-Zellantigenrezeptor, so handelt es sich um sog. T-Helferzellen. Diese binden über den MHC-II-Komplex mit einer APC und führen über eine Zytokinsekretion zur Stimulation der übrigen Immunzellen. T-Helferzellen (Th-Zellen) werden wiederum in zwei Untergruppen eingeteilt: Th1-Zellen sezernieren Interleukin-2 und Interferon- γ , aber kein Interleukin-4 oder -5, wobei Th2-Zellen Interleukin-4 und -5 jedoch kein Interleukin-2 oder Interferon- γ sezernieren. Th1-Zellen sind in der Makrophagenaktivierung involviert und fördern die Synthese von Antikörpern (v.a. IgG), wobei Th2-Zellen bei der Synthese von anderen Antikörper (v.a. IgE) helfen.

2.5.2.2 CD8-positive T-Lymphozyten

Ist anstelle von CD4- ein CD8-Antigen vorhanden, so sind es T-Zellen mit Suppressorfunktion oder zellvermittelnder Zytotoxizität (Schliesser 1990).

Zytotoxizität wird dabei durch zwei Mechanismen vermittelt: Einerseits durch eine Interaktion von Fas und Fas-Ligand (CD95/CD95L). Membrangebunder Fas-Ligand bindet an Fas auf den T-Zellen oder durch Aktivierung von TRAIL (Tumor-Nekrosis Factor-related Apoptosis-inducing Ligand), ein TNF (Tumor Nekrose Faktor) Rezeptor auf der Zielzelle (Strasser et al. 2000). Durch diese Angehörige der TNF-Rezeptor-Familie kommt es letztlich zur Aktivierung der Apoptose der Zellen. Andererseits schleusen CD8+ T-Zellen Perforinen und Granzymen (Trapani et al.

1999) aus und vermitteln hierdurch die Aktivierung einer intrazellulären Kaspase-Kaskade Apoptose (Smyth and Trapani 1995).

Zytotoxische T-Zellen (CTL) gelten als die wichtigsten Effektorzellen gegen Tumore, wobei das Erkennen von TAA auf APCs durch CTL der entscheidende Vorgang ist.

Immunkompetente Tumorträger regulieren die Anzahl ihrer CD8⁺ T-Zellen hoch, die dann als Effektorzellen eine Lysis des Tumors hervorrufen können (He et al. 2000; Kowalczyk et al. 2000; Kowalczyk et al. 2001).

Histologisch zeigen sich als „Tumordinfiltrierende Lymphozyten“ (TIL) (Itoh et al. 1988; Kawakami et al. 2000) meist CD8-positive T-Zellen, die MHC-Klasse-II restringierende Tumorzellen (Wallich et al. 1985) lysieren (Mukherji et al. 1989; Topalian et al. 1989; Yannelli et al. 1996). Nach Aktivierung der CD8⁺ T-Zellen stimulieren diese B-Zellen zur Immunglobulin(Ig)-Produktion und induzieren zusätzlich zytotoxische Reaktionen von Makrophagen.

2.5.2.3 NK- (Natural Killer-) Zellen

NK-Zellen sind große granuläre Lymphozyten, die weder der B- noch der T-Lymphozytenreihe zugeordnet werden können. Sie exprimieren F_C-Rezeptoren (CD16 und CD56) und erkennen hierrüber den F_C-Teil von Immunglobulinen auf der Zielzelle. NK-Zellen entfalten ihre zytotoxische Wirkung über Perforine (Lyse der Zielzelle), CD95L (Apoptoseinduktion in der Zielzelle) und Zytokine (Tumornekrosefaktor (TNF) - α und - γ) unabhängig von einer Antigenpräsentation. Eine verringerte MHC-Klasse-I-Moleküloberflächenexpression oder deren komplette Suppression ist ein häufiges Phänomen bei Tumoren unterschiedlicher Histologie. Aufgrund ihrer Fähigkeit, Tumorzellen ohne vorherige Sensibilisierung und in Abwesenheit des MHC-Komplexes zu zerstören, gelten NK-Zellen als wichtige Effektoren (Ritz et al. 1988).

2.5.2.4 B-Zellen

B-Zellen entstehen in sekundären lymphatischen Organen und Geweben und werden durch Antigenstimulation zur B-Lymphoblasten (Immunoblasten) und schließlich zu Plasmazellen transformiert. Eine reife Plasmazelle synthetisiert und

sezerniert nach Interaktion mit T-Helferzellen oder T-Suppressorzellen Antikörper oder differenziert sich zu einer Gedächtniszelle (Schliesser 1990).

Für die Interaktion mit den T-Zellen sind spezifische Rezeptoren, die Immunglobulin-Moleküle (Ig) auf der Oberfläche der B-Zellen notwendig. Der B-Zellantigenrezeptor besteht aus zwei nicht kovalent gebundenen Proteinen (Hombach et al. 1990), Ig- α (CD79a) und Ig- β (CD79b), welche für die Expression und die Funktion des B-Zellantigenrezeptors notwendig sind.

2.6 Tumor-escape-Mechanismus nach Matzinger

Unter Tumor-escape versteht man, daß Tumorzellen sich einer Immunantwort entziehen. Durch Mutationen der Tumorzellen, sind diese transformierten Zellen sowohl genotypisch als auch phenotypisch instabiler als „normale“ Zellen. Z.B. stellt MHC-Klasse-I Downregulation, wodurch der Tumor die Möglichkeit besitzt die körpereigene Immunabwehr zu unterlaufen, ein sog. Tumor-escape-Mechanismus dar (Matzinger 1994).

Es kommt zum Verlust von Tumor-assoziierten Antigenen (TAA), von MHC-Komplexen (Cabrera et al. 1996; Cormier et al. 1998; Riker et al. 1999; Koopman et al. 2000; Kontani et al. 2001), und/oder von Transporterproteinen, die mit der Antigenpräsentation assoziiert sind (Cromme et al. 1994; Korkolopoulou et al. 1996; Seliger et al. 1997). Andererseits vermag die verminderte Expression kostimulatorischer Moleküle (Chen et al. 1994), Tumorzellen-Anergie in tumorspezifischen T-Zellen zu induzieren (Koyama et al. 1998; von Leoprechting et al. 1999). Ein anderer Mechanismus, die FasL-Expression der malignen Zellen, vermag die Apoptose aktivierter CD8⁺ Lymphozyten zu induzieren (Whiteside and Rabinowich 1998). Weiterhin schaffen Tumorzellen durch Sekretion von Zytokinen, wie TGF- β und Interleukin-10 (IL-10) und andere Mediatoren wie Histamin ein Mikroklima, das u.a. die Aktivierung von CD4⁺ und CD8⁺ Lymphozyten unterdrückt (Muller et al. 2002).

2.7 Immunzell-spezifische Antigene

Immunzellen können morphologisch u.a. durch den Nachweis ihrer Oberflächenmoleküle identifiziert werden. Seit einiger Zeit wird dabei der Nachweis

der Cluster of Differentiation (CD) einsetzt. Mit „Cluster of Differentiation“ werden Gruppen von immunphänotypischen Merkmalen von Zellen benannt, die sich nach biochemischen oder funktionellen Kriterien ordnen lassen.

Bei den CD-Molekülen handelt es sich um membrangebundene oder zytosolisch gelöste Glykoproteine, die zellspezifisch exprimiert werden und verschiedenste Funktionen haben können: Einige CDs haben Rezeptor- oder Signalfunktion, während bei anderen enzymatische Aktivität nachgewiesen werden konnte; darüber hinaus wird einigen CD-Molekülen eine zentrale Rolle bei der interzellulären Kommunikation zugeschrieben. Bisher sind weit über hundert Moleküle charakterisiert worden, wobei davon auszugehen ist, dass noch viele weitere CDs existieren (Mason 2002).

2.7.1 CD1-Antigen

CD1 Proteine werden auf doppelt-positiven (CD4+CD8+) kortikalen Thymozyten und mit weniger Intensität auf den einzeln-positiven Thymozyten (CD4+ oder CD8+) während der Thymusreifung exprimiert (Fainboim and Salamone Mdel 2002). CD1 hat eine beträchtliche strukturelle Homologie mit MHC-I und -II und ist damit für die T-Zell-Aktivierung verantwortlich.

CD1a wird überwiegend auf dendritischen Zellen und wenigen anderen Zelltypen exprimiert. Die übrigen vier humanen Isotypen CD1b, 1c, 1d und 1e werden u.a auf B-Zellen und auf der Oberfläche des Darmepithels expremiert. Alle CD1-Moleküle, ausgenommen CD1e, sind Oberflächenglykoproteine, die strukturell mit den MHC-Molekülen zusammenhängen (Han et al. 1999; Oteo et al. 1999; Fainboim and Salamone Mdel 2002). Drei unterschiedliche Fraktionen DCs können aus normalen menschlichen Blut isoliert werden: CD1a+CD11c+ (doppelt-positive) CD1a-CD11c- (doppelt-negativ) und CD1a-CD11c+ (einzeln-positive) Populationen. Die CD1a+CD11c+ Population kann mit GM-CSF, IL-4 und transforming growth factor- β (TGF- β) in vitro in Langerhanszellen differenziert werden (Ito et al. 1999).

2.7.2 CD3-Antigen

1989 etablierte Mason et al. (1989) einen im Kaninchen hergestellten, polyklonalen Antikörper, der gegen eine intrazytoplasmatisch gelegene Domäne der CD3- ϵ -Kette

gerichtet ist. Da die Epitope dieser Aminosäuresequenz resistent gegenüber Denaturierung sind, können sie in formalinfixierten, paraffineingebetteten Geweben markieren (Mason et al. 1989; Kelley et al. 1997; Gerard et al. 1998; Kelley and Mahaffey 1998). CD3 ist bei vielen Spezies nachgewiesen worden und scheint hierdurch phylogenetisch hoch konserviert zu sein.

2.7.3 CD68-Antigen

CD68 (Syn.: gp110, macrosialin) ist ein 110 kDa großes transmembranöses Glykoprotein, das vornehmlich intrazellulär in zytoplasmatischen Granula und in geringerer Anzahl auch membranständig in zahlreichen Zellarten wie z.B. Monozyten und Makrophagen, aber auch auf Neutrophilen und Basophilen auftritt (Cordell et al.; Davey et al. 1988; Pulford et al. 1989; Stockinger 1989; Pulford et al. 1990; Fukuda 1991; Rabinowitz and Gordon 1991; Holness and Simmons 1993; Ramprasad et al. 1995; Strobl et al. 1995; Ramprasad et al. 1996).

2.7.4 CD79a-Antigen

In Analogie zur T-Zellrezeptor-assoziierten CD3-Komponente der T-Lymphozyten ist das Peptid CD79a mit dem membrangebundenen IgM auf B-Zellen nicht-kovalent gebunden und ist für die Signaltransduktion nach Antigenbindung verantwortlich (Mason et al. 1991). Da diese Komponenten eine strukturelle und funktionelle Ähnlichkeit zum T-Zell-Antigen-Rezeptor-Komplex aufweisen, werden sie als B-Zell-Antigen-Rezeptor-Komplex bezeichnet (Hombach et al. 1990; Mason et al. 1991; Mason et al. 1995).

CD79a scheint phylogenetisch hoch konserviert zu sein, da es bei zahlreichen Spezies, z.B. Mensch, Affe, Schwein, Pferd, Rind, Kaninchen, Ratte, Meerschweinchen und Maus nachgewiesen wurde (Mason et al. 1991; Jones et al. 1993; Kelley et al. 1997).

2.7.5 S100-Familie

Die Vertreter dieser Ca^{2+} bindenden Protein-Familie wurden aufgrund ihrer Löslichkeit in 100%igem Ammoniumsulfat bei neutralem pH S100 genannt (Moore 1965; Hyden and McEwen 1966). S100 ist ein saures, thermolabiles Protein mit

Literaturübersicht

einem Molekulargewicht zwischen 10000 und 25000 D, das bei allen Säugetieren vorkommt (Moore 1982) und aus zwei Untereinheiten besteht: S-100a aus einer α - (93 Aminosäuren) und β -Untereinheit (91 Aminosäuren) und S-100b aus einer β -, γ -Untereinheit. Da es ursprünglich in Gliazellen lokalisiert wurde, beschrieb es Moore (1965) als ein für Nervengewebe typisches Protein. Allerdings kommt es auch in zahlreichen Geweben und Zellen wie z.B. in Melanozyten, Langerhans Zellen (der Haut), Chondrozyten, Myoepithelien der Schweiß-, Speicheldrüsen und Mamma, Lipozyten, Hypophyse, Peyersche Platten, interdigitierenden dendritischen Zellen sowie dendritischen Zellen der Lymphknoten vor (Gaynor et al. 1980; Cocchia et al. 1981; Gaynor et al. 1981; Nakajima et al. 1982; Nakajima et al. 1982; Stefansson et al. 1982; Stefansson et al. 1982; Kahn et al. 1983; Kato et al. 1983; Nakamura et al. 1983; Hofler et al. 1984; Takahashi et al. 1984; Sandusky et al. 1985; Donhuijsen et al. 1988; Gillett et al. 1990; Sugimura et al. 1990; Geyer et al. 1992; Moller and Hellmen 1994; Bouchard et al. 1995).

Die S100 Färbungen an formalinfixiertem Gewebe war eine der ersten immunhistochemischen Nachweismethoden, die benutzt wurde, um DCs nachzuweisen.