

1 Einleitung

1.1 Pathogenese des systemischen Lupus erythematoses

Die komplexe und systemische Natur des SLE mit verschiedenen Verläufen und Spielarten macht es schwer, die pathogenetische Grundlage der Krankheit zu bestimmen. Sicher ist, dass es sich nicht um eine monokausale Pathogenese handelt, sondern dass verschiedene Faktoren bei der Entstehung des Lupus zusammenspielen.

Kennzeichnend für die Erkrankung ist das Auftreten einer Reihe von gegen nukleäre Bestandteile gerichtete Autoantikörpern (Anti-nukleäre-Antikörper) wie Anti-dsDNA-, Anti-Nucleosom-, Anti-Histon-, Anti-Sm-Autoantikörper und andere. Die Klinik ist geprägt von Allgemeinerscheinungen wie Fieber und Abgeschlagenheit, Hauterscheinungen wie dem charakteristischen Schmetterlingserythem, hämatologischen Veränderungen und variablen Organbeteiligungen der Nieren, der Gelenke, des Herzens, des ZNS oder der Lungen. Die Diagnose systemischer Lupus erythematoses kann anhand der seit 1982 geltenden und zuletzt 1997 modifizierten 11 Kriterien des American College of Rheumatology (ACR) gestellt werden^[1, 2].

ACR Kriterien zur Klassifikation des systemischen Lupus erythematoses	
1. Schmetterlingserythem (Malar Rash)	7. Renale Funktionsstörung (persistente Proteinurie oder Zellen im Urin)
2. Diskoider Lupus	8. Neurologische Störungen (Krampfanfälle, Psychosen)
4. Photosensibilität der Haut	9. Haematologische Veränderungen (Zytopenien)
4. Oronasale Ulzerationen	10. Immunologische Veränderungen (Anti-DNA, Anti-Sm- oder Anti-Phospholipid-Antikörper)
5. Arthritis (nichterosiv, zwei oder mehr periphere Gelenke)	11. Antinukleäre Antikörper
6. Serositis (Pleuritis oder Pericarditis)	
Das Erfüllen von 4 oder mehr Kriterien (simultan oder zeitlich versetzt) stellt die Diagnose systemischer Lupus erythematoses^[1, 2].	

Tabelle 1: ACR-Kriterien zur Stellung der Diagnose systemischer Lupus erythematoses.

Im Folgenden wird die Pathogenese des systemischen Lupus erythematoses skizziert.

1.1.1 Genetische Prädisposition

Zwillingsstudien beim Lupus erythematoses haben gezeigt, dass in 24% aller Fälle bei eineiigen Zwillingen beide Geschwister an SLE erkranken. Bei dizygoten Zwillingen hingegen ist die Konkordanz des Auftretens der Erkrankung nur 2%^[3]. Diese Daten weisen stark auf eine genetische Komponente bei der Lupus-Pathogenese hin, zeigen aber gleichzeitig die Bedeutung nicht-genetischer Faktoren: In $\frac{3}{4}$ der Fälle von SLE bei einem eineiigen Zwillings bleibt der andere gesund, obwohl beide genetisch homozygot sind. Neben den Genen müssen dementsprechend noch exogene Faktoren und/oder stochastische Momente eine Rolle spielen.

Sowohl bei Lupus-Patienten als auch in SLE-Mausmodellen wurden verschiedene, mit der Erkrankung SLE assoziierte Gene identifiziert. In der Mehrzahl der Fälle sind die einzelnen Gene alleine nicht pathogenetisch, in Kombination mit anderen Genen oder Umwelteinflüssen können sie jedoch zur Erkrankung führen. In Mäusen (NZM2410 Mausstamm) konnten verschiedene prädisponierende Gensegmente ausgemacht werden: Das Segment Sle1 durchbricht die Toleranz gegenüber Nukleosomen, Sle2 führt zur B-Zell-Hyperreaktivität und Sle3 macht T-Zellen hyperreaktiv. Treten diese Gene gemeinsam auf, dann erkranken die Mäuse an einem Lupus-like Syndrom, isoliert führen diese Gene nicht zur Erkrankung^[4, 5].

In einer kleinen Minderheit von Patienten mit SLE (<5%) scheinen allerdings Mutationen in einem einzelnen Gen für die Pathogenese entscheidend zu sein^[6]. Erbliche Defekte im klassischen Komplementsystem sind beispielsweise stark mit dem SLE assoziiert: Fast alle Patienten, die homozygot für defizientes C1q sind, bekommen Lupus. Homozygote Defekte von C4 führen in 75%, von C1r/C1s in 57% der Fälle zum systemischen Lupus erythematoses. Einschränkend ist allerdings zu erwähnen, dass die aus monogenen Komplementdefekten hervorgehende Erkrankung in der Regel nicht die typische SLE-Klinik präsentiert. Diese dennoch enge Verbindung von Defekten im klassischen Komplementsystem und SLE gibt Hinweise auf pathogenetische Faktoren und Zusammenhänge: Das klassische Komplementsystem ist bei der Beseitigung von Immunkomplexen und von apoptotischen Material beteiligt^[6, 7], beides zentrale Figuren in der Pathogenese des SLE (siehe unten). Ferner kann spekuliert werden, dass Defekte im Komplementsystem mit verminderter Resistenz gegenüber Infektionen einhergehen, welche wiederum Autoimmunität auslösen könnten.

1.1.2 Umweltfaktoren bei der Pathogenese des SLE

Die bereits erwähnte Konkordanz für das Auftreten von SLE bei eineiigen Zwillingen von 24% weist nicht nur auf eine genetische Prädisposition für SLE, sondern auch auf die Rolle von Umwelt- und/oder stochastischen Faktoren bei der Pathogenese des Lupus erythematoses hin.

Ein weiteres Indiz ist die geringe Prävalenz von SLE in West-Afrika, verglichen mit der hohen Prävalenz von SLE bei schwarzen Amerikanern in den USA (welche zum Grossteil von den ehemals vornehmlich in Westafrika gefangengenommenen Sklaven abstammen) – dieser Prävalenzunterschied in zwei genetisch sehr ähnlichen Populationen deutet auf exogene Faktoren bei der Krankheitsentstehung hin^[8]. Welche Umweltfaktoren im einzelnen SLE auslösen können, ist noch immer Gegenstand von Studien und nicht bei allen bisher diskutierten Faktoren konnte tatsächlich eine Assoziation mit SLE nachgewiesen werden. Beispiele für relativ gut dokumentierte, mit SLE assoziierte exogene Faktoren sind einige Viren wie EBV^[9, 10], Exposition gegenüber UV-Licht und bestimmte Pharmaka wie Procainamid oder Hydralazin^[11].

1.1.3 Rolle der Apoptose

1.1.3.1 Mangelnde Apoptosefähigkeit: „Zu wenig Apoptose“

Die Beobachtung, dass eine eingeschränkte Apoptose bzw. defiziente Auslösemechanismen der Apoptose zu einem Lupus-ähnlichen Krankheitsbild führen, wurde erstmals an dem Mausmodell MRL/lpr gemacht: MRL Mäuse, welche homozygot das *lpr* Gen tragen, entwickeln ein dem SLE ähnliches Krankheitsbild. Analysen des *lpr* Allels haben ergeben, dass es sich dabei um einen defekten Fas-Rezeptor handelt, ein Rezeptor, über den normalerweise Apoptose ausgelöst wird. Der Verdacht einer Verbindung zwischen defizienter Apoptose und einem SLE-ähnlichen Krankheitsbild wurde durch die Untersuchung der *gld* Mutation erhärtet: Das *gld* Gen kodiert einen defizienten Fas-Liganden, und auch Mäuse mit dieser Mutation entwickeln ein Lupus-like Syndrom^[12]. Neuere Mausmodelle demonstrieren, dass sich die Überexpression des antiapoptotischen Proteins bcl-2^[13] als auch das Ausschalten des proapoptotischen Proteins BIM durch Gen knock-out^[14] ähnlich auswirken.

Die Modellvorstellung, wie Apoptosedefizienz zu Autoimmunität führt, ist einleuchtend: Normalerweise werden autoreaktive Zellen unter anderem durch Apoptose eliminiert – fehlt die Apoptose, so fehlt auch dieser Mechanismus zur Aufrechterhaltung der Immuntoleranz.

Auch bei Menschen wurden Mutationen von Fas und Fas-Liganden nachgewiesen. Diese sind jedoch selten und führen zu einem Krankheitsbild, das dem SLE allenfalls ähnlich ist. Vom klassischen SLE unterscheiden sich die resultierenden Krankheitsbilder durch die in der Regel vorhandene massive Lymphoproliferation, und nur selten werden 4 der für den SLE diagnostischen Kriterien des American College of Rheumatology (ACR) erfüllt.

1.1.3.2 Übermäßige Apoptose: „Zu viel Apoptose“

Auch ein Übermaß an Apoptose könnte ein entscheidender Faktor in der Pathogenese des SLE sein. Beim apoptotischen Zelluntergang werden die typischen SLE Autoantigene frei bzw. zugänglich und könnten so Ziel der pathologischen Autoimmunreaktion werden. Einiges spricht für die Apoptose als den Mechanismus, der zur Freisetzung der pathogenetischen Autoantigene führt:

- SLE Patienten zeigen häufig erhöhte Level frei zirkulierender DNA^[15], gewöhnlich in Assoziation mit Histonproteinen als Nucleosomen^[16]. Nucleosomen und DNA sind ein typischerweise bei Apoptose freiwerdendes Abbauprodukt. Beide sind für den SLE zentrale Autoantigene, was sich in den charakteristischen Autoantikörpern gegen DNA und Nucleosomen widerspiegelt.
- An apoptotischen Keratinozyten wurde gezeigt, dass intrazelluläre Autoantigene in sogenannten blebs und bodies an die Zelloberfläche verlagert werden^[17]. Dort sind diese Autoantigene für Autoantikörper zugänglich.
- Auf dem Weg zur Apoptose werden intrazelluläre Proteine u.a. durch Caspasen und Granzyme degradiert. Durch diese enzymatische Modifikation körpereigener Moleküle werden diese möglicherweise immunogen und vom Immunsystem als Antigen erkannt.
- Im Rahmen der Apoptose kommt es zur Verlagerung geladener Phospholipide wie dem Phosphatidylserin an die Zelloberfläche. Diese geladenen Phospholipide dienen eigentlich der Vermittlung einer möglichst schnellen Elimination von apoptotischem Material. Allerdings sind diese Phospholipide auch Ziel der Anti-Phospholipid-Autoantikörper. Durch Apoptose werden diese Phospholipide durch ihre Verlagerung an die Zelloberfläche für die Antikörper zugänglich.

Von zentraler Bedeutung für die Pathogenese des SLE könnte nicht nur die Tatsache sein, dass im Zuge der Apoptose intrazelluläre Antigene frei und einer Immunreaktion zugänglich werden, sondern in welcher Form sie das tun: Nämlich im Verbund mit anderen Molekülen in Makrokomplexen wie Nucleosomen, Apoptotic-blebs oder Apoptotic-bodies: Dieses Vorliegen der Autoantigene in Konglomeraten eröffnet eine Erklärungsmöglichkeit, wie B-Zellen mit Anti-dsDNA- oder Anti-Phospholipid-Spezifität T-Zell-Hilfe zur Antikörperproduktion bekommen: Sowohl DNA als auch Phospholipide sind keine für T-Zellen typischen Antigene, da diese in erster Linie auf MHC-Molekülen präsentierte Peptide erkennen. Würden die B-Zellen isoliert DNA oder Phospholipide aufnehmen und präsentieren, so wäre es ihnen kaum möglich, T-Zell-Hilfe zur Autoantikörperproduktion zu bekommen. Phagozytieren die B-Zellen hingegen „ihr“ Antigen im Komplex mit Proteinen, so können diese Proteine intrazellulär zerlegt und den T-Zellen präsentiert werden. Wahrscheinlich ist, dass beispielsweise B-Zellen mit Anti-dsDNA-Spezifität an DNA im Verbund als Nucleosom binden und das ganze Nucleosom phagozytieren; ähnliches gilt für B-Zellen mit Anti-Phospholipidspezifität und Apoptosekörpern. Einen indirekten Beweis für dieses Modell liefern Zellkultorexperimente: Nucleosom-spezifische T-Helferzellklone

geben B-Zellen mit Anti-dsDNA-, Anti-Histon- und Anti-Nucleosom-Spezifität Hilfe zur Antikörperproduktion^[18].

Mögliche Konsequenzen aus diesem Modell:

- Normalerweise werden intrazelluläre Proteine auf MHCII-Molekülen präsentiert. Physiologischerweise werden intrazelluläre Proteine nur auf MHCI „gezeigt“, MHCII-Moleküle dienen der Präsentation phagozytierter, extrazellulärer Proteine. Da das Immunsystem diese intrazellulären Proteine auf MHCII-Molekülen nicht „kennt“, könnten sie als Antigen erkannt werden.
- Durch das Prozessieren der phagozytierten Proteine in den B-Zellen können kryptische antigene Epitope freigesetzt werden – also antigene Strukturen körpereigener Proteine, auf die das Immunsystem normalerweise aufgrund der Molekülfaltung nicht trifft. Auch hier gilt, was das Immunsystem an körpereigenen Molekülen nicht kennt oder regelmäßig antrifft, wird potentiell als „fremd“ erkannt.
- Die B-Zellen nehmen verschiedene Antigene in großen Konglomeraten auf und präsentieren diverse intrazelluläre Antigene, die von T-Zellen erkannt werden können. Das führt dazu, dass im Krankheitsverlauf diverse autoreaktive T-Zellen mit Spezifitäten für unterschiedliche Autoantigene aktiviert werden. Es wird also eine steigende Anzahl von Autoantigenen vom Immunsystem erkannt – ein Prozess, der als „Epitopspreeding“ bezeichnet wird.

Die Apoptose ist allerdings ein physiologischer Vorgang, der tagtäglich auch in gesunden Individuen stattfindet, ohne Autoimmunität auszulösen. Im Körper wird apoptotisches Material normalerweise sehr schnell eliminiert, ohne dass es zu einer Immunreaktion kommt. Wie kommt die Apoptose zu einer potentiell pathologischen Rolle beim SLE? Entscheidend könnte ein Ungleichgewicht zwischen Apoptose und der Elimination apoptotischen Materials sein.

Disbalance: Apoptose↑ / Clearance apoptotischen Materials↓

1.1.3.2.1 Gesteigerte Apoptoserate

Mehrere Arbeitsgruppen haben an Zellen von murinen Modellen und SLE Patienten erhöhte intrinsische Apoptoseraten nachgewiesen^[19, 20]. Auch exogene mit SLE assoziierte Faktoren, wie UV-Licht, Infektionen und einige Pharmaka führen zu vermehrter Apoptose.

1.1.3.2.2 Verminderte Clearance apoptotischen Materials

Normalerweise sind Makrophagen maßgeblich an der Elimination von apoptotischen Zellen beteiligt. In Experimenten mit aus dem Blut von SLE Patienten gewonnenen Makrophagen wurde nachgewiesen, dass diese Zellen nur in eingeschränktem Umfang apoptotische Zellen phagozytieren^[21]. Bei einem Subset von SLE Patienten zeigte sich ferner eine herabgesetzte Clearance von apoptotischem Material durch Makrophagen in den Keimzentren der Lymphfollikel^[22] – einer der Schaltstellen des Immunsystems, wo sich die Präsenz von bei der Apoptose freiwerdenden Autoantigenen besonders empfindlich auswirken könnte. Ferner sind verschiedene Gendefekte, die eine eingeschränkte Clearance von apoptotischen Zellen bedingen, mit der Entwicklung von SLE assoziiert.

1.1.3.2.3 Modifizierung der Apoptose durch Autoantikörper

Physiologischerweise werden apoptotische Zellen ohne eine Entzündungsreaktion und ohne das Auslösen einer Immunantwort eliminiert. Die das apoptotische Material phagozytierenden Zellen präsentieren zwar Teile des aufgenommenen Materials, allerdings nicht in einem aktivierten Status und ohne volle Costimulation – auf diese Art der Antigenpräsentation wird eine Immunreaktion gegen die präsentierten Antigene gehemmt und nicht gefördert^[23]. Des Weiteren sezernieren Makrophagen, die mit dem Abräumen von apoptotischen Zellen beschäftigt sind, antiinflammatorische Zytokine, die ebenfalls eine Immunantwort hemmen^[24].

Diese antiinflammatorische Clearance von Apoptosematerial ändert sich qualitativ, wenn die Apoptosekörper und Apoptoseprodukte wie Nukleosomen mit Autoantikörpern opsonisiert sind. Die an das apoptotische Material gebundenen Antikörper senden den phagozytierenden Zellen ein Aktivierungssignal. Die Clearance von Apoptosematerial findet dann in einem eher proinflammatorischen Setting statt und die Antigen-präsentierenden-Zellen präsentieren die phagozytierten Antigene mit voller Costimulation – was eine Immunantwort auf die präsentierten Autoantigene fördert^[25].

Sind im Krankheitsprozess also erst einmal Autoantikörper vorhanden, könnte eine qualitative Veränderung der Clearance von Apoptoseprodukten die weitere Progredienz des Autoimmunprozesses unterstützen.

1.1.4 B-Zellen und SLE

1.1.4.1 Rolle der B-Zellen in der Gesamtpathogenese des Lupus erythematoses

Autoreaktive B-Zellen/Plasmazellen produzieren beim SLE die für die Erkrankung charakteristischen Autoantikörpern, die an der Vermittlung der Organ- und Zellschädigung beteiligt sind. Die Autoantikörper tragen aber auch zur Aufrechterhaltung und Ausweitung des Autoimmunprozesses bei: Neben der Modifikation der Elimination von Apoptosematerial (siehe

oben) können Teile der Autoantikörper selbst zum Autoantigen werden, welches die pathologische Immunantwort antreibt^[26].

Neben der Autoantikörperproduktion sind B-Zellen als Antigen-präsentierende-Zellen an der SLE Pathogenese beteiligt: Autoreaktive B-Zellen können über die Präsentation von Autoantigenen autoreaktive T-Zellen aktivieren^[27, 28] und anhand von knock-out Mäusen wurde gezeigt, dass B-Zellen als APC's für die SLE Pathogenese unentbehrlich sind^[29]. Ferner könnten B-Zellen durch die Produktion von Zytokinen Einfluss auf die Pathogenese des SLE nehmen^[30].

1.1.4.2 Autoantikörperproduktion

Beim Lupus erythematodes produzieren Plasmazellen eine Reihe von Autoantikörpern, die charakteristisch für die Erkrankung und mitverantwortlich für die klinischen Manifestationen sind. Autoreaktive B-Zellen finden sich allerdings auch in gesunden Individuen, dort produzieren sie aber keine relevanten Mengen IgG Autoantikörper. Welche Faktoren führen zur Autoantikörperproduktion beim SLE?

Zwei Mechanismen spielen vermutlich bei der Autoantikörperproduktion zusammen:

1. **Intrinsische B-Zell-Hyperaktivität und polyklonale B-Zell-Aktivierung:** B-Zellen bei SLE zeigen funktionelle Abnormitäten wie gesteigerte spontane Sekretion von Antikörpern und eine erhöhte Expression von costimulatorischen Molekülen wie CD86 und CD40L^[31]. Die an den B-Zellen nachweisbaren intrinsischen Besonderheiten sprechen dagegen, dass es sich dabei allein um reaktive Veränderungen infolge der allgemeinen Aktivierung des Immunsystems handelt. Beispielsweise finden sich in der Signaltransduktionskette des B-Zell-Rezeptors von SLE B-Zellen Abweichungen wie erhöhter Ca⁺⁺ Flux und erhöhte Protein-Tyrosyl-Phosphorylierung^[32]. Neben intrinsischen tragen wahrscheinlich extrinsische Faktoren wie erhöhte Produktion von IL-6^[33] und IL-10^[34] zur polyklonalen B-Zellaktivierung bei.
2. **T-Helferzellen fördern antigenspezifisch die Produktion von Autoantikörpern.** Dafür sprechen die Eigenschaften der SLE typischen Anti-dsDNA-Autoantikörper, welche die Charakteristika von mit spezifischer T-Zell-Hilfe produzierten Antikörpern zeigen: Die Antikörper sind überwiegend vom IgG Isotyp (ein Ig-Klassenwechsel hat also stattgefunden), sie sind oligoklonal und weisen als Zeichen stattgefundener Affinitätsreifung zahlreiche somatische Mutationen in den V_H-Genregionen auf^[35]. Gleiches gilt für Anti-Histon-^[36] und Anti-Chromatin-Autoantikörper^[37].

1.1.4.3 Produzierte Autoantikörper

Charakteristisch für den SLE sind in erster Linie die gegen nukleäre Bestandteile gerichteten Autoantikörper. Prominenteste Vertreter sind Autoantikörper gegen dsDNA, die als Marker für den SLE dienen. Neben diesen sind Anti-SmD1-IgG zu nennen, die hochspezifisch für den SLE sind^[38], des weiteren Anti-Histon-Ak, Anti-Chromatin-Ak und Anti-Nucleosom-Ak.

Neben den antinukleären Antikörpern tritt ein breites Spektrum von Autoantikörpern auf, wobei einige dieser Autoantikörper wahrscheinlich nicht an der Vermittlung der Zell- und Organschädigung beteiligt sind, sondern lediglich Epiphänomene darstellen. Bei einer Reihe von Autoantikörpern ist jedoch davon auszugehen, dass sie direkt an der Vermittlung der Zell- und Gewebsschädigung beteiligt sind: Dazu gehören Anti-dsDNA-Ak, Anti-SmD1-Ak, Anti-Phospholipid-Ak, Anti-Neuronale-Ak, Anti-Lymphozyten/Erythrozyten/Thrombozyten-Ak und Anti-Ro-Ak^[6].

1.1.5 T-Zellen und SLE

Der systemische Lupus erythematodes ist eine von T-Zellen abhängige Erkrankung – verschiedene Experimente mit Mausmodellen ohne T-Zellen^[39-41] und nicht zuletzt die Wirksamkeit des T-Zell-spezifischen Immunsuppressivums Cyclosporin A in der Therapie von SLE belegen diese Annahme^[42], ohne T-Zellen kein SLE.

Wie bereits erwähnt, unterstützen und induzieren T-Zellen die Autoantikörperproduktion durch B-Zellen (siehe oben). Neben den klassischen CD4⁺ T-Helferzellen sind zu dieser B-Zellhilfe beim SLE auch CD8⁺ und CD4⁻CD8⁻ doppelt-negative T-Zellen in der Lage^[6, 43].

Andere Effektorfunktionen mit denen T-Zellen zur Pathogenese beitragen könnten:

- Durch Produktion von Zytokinen tragen sie zur systemischen Zytokin-Dysbalance und damit zur Dysregulation des Immunsystems bei. Zum anderen kann die lokale Produktion von proinflammatorischen Zytokinen „vor Ort“ zur Initiierung und Unterhaltung eines Entzündungsprozesses im Gewebe führen.
- T-Zellen können durch direkte Zytotoxizität Zellen töten. Das ist die klassische Domäne der CD8⁺ T-Zellen, aber auch CD4⁺ Zellen sind dazu in der Lage^[44].
- T-Zellen können Makrophagen aktivieren – entweder durch direkten Zell-Zell-Kontakt oder über Zytokine. Aktivierte Makrophagen tragen zur Gewebsschädigung im Rahmen von Entzündungsprozessen bei.

Analog zu B-Zellen finden sich in gesunden Individuen auch potenziell autoreaktive T-Zellen^[44, 45] – wie kommt es zum Durchbrechen der T-Zell Toleranz bei SLE? Ein Faktor, der zur Aktivierung autoreaktiver T-Zellen beitragen könnte, ist die intrinsische Hyperreaktivität der T-Lymphozyten bei SLE. Beispielsweise sind mehrere Unregelmäßigkeiten in der

Signaltransduktion dieser T-Zellen bekannt^[46]. Daneben führt wahrscheinlich die gesteigerte Präsenz und Präsentation von Autoantigenen (Apoptoseungleichgewicht, siehe oben) zu einer Aktivierung pathologischer T-Zell-Klone. Dabei muss bedacht werden, dass nicht nur vermehrt Autoantigene präsent sind, sondern diese Autoantigene zum Teil modifiziert vorliegen (Modifizierung im Zuge der Apoptose und der Präsentation auf MHCII) und normalerweise verborgene, kryptische Antigene frei werden. Wenn erst einmal der Autoimmunprozess in Gang gesetzt ist und Antigen-präsentierenden-Zellen Autoantigene in einem proinflammatorischen Setting mit voller Costimulation präsentieren, werden auch leicht autoreaktive T-Lymphozyten mit Spezifität für andere Autoantigene aktiviert.

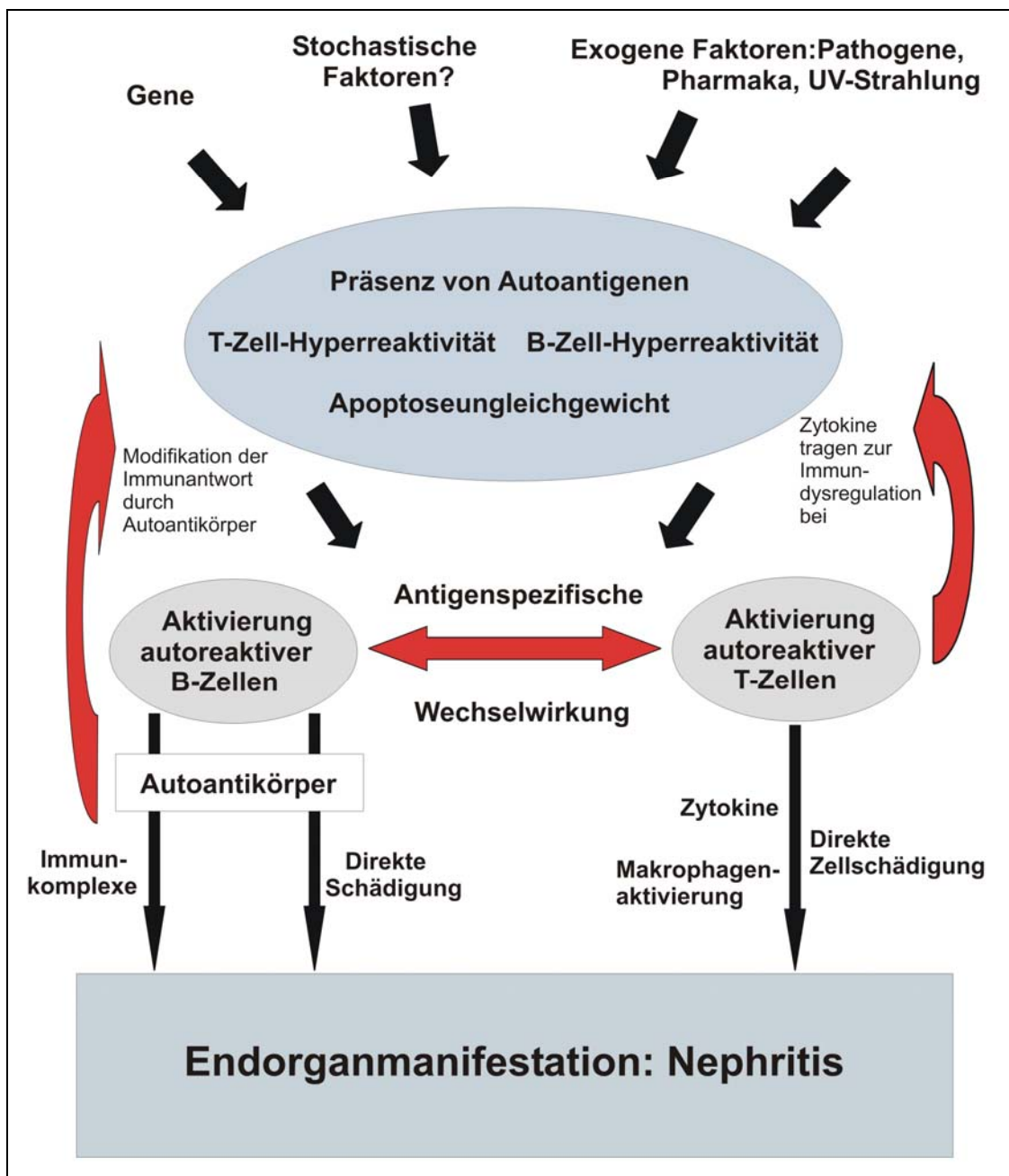


Abbildung 1: Schematische Übersicht der Pathogenese des SLE

1.2 Autoantigene beim SLE

Die Pathogenese des Lupus erythematoses wurde im vorangegangenen Teil umrissen – welche Rolle spielen Autoantigene darin? Ein zentrales Schlüsselereignis in der Pathogenese ist die autoantigenspezifische Interaktion von T- und B-Zellen. Diese Interaktion über das spezifische Erkennen bestimmter Autoantigene durch T-Zellen ist die treibende Kraft und die *conditio sine qua non* der Autoantikörperproduktion und der Lupuspathogenese generell. Es handelt sich um T-Zell-Antigene, die entweder auch B-Zell-Epitope aufweisen oder von B-Zellen komplexiert mit anderen Antigenen, beispielsweise im Verbund mit DNA oder als Apoptosekörperchen, phagozytiert werden. Die so aufgenommenen Antigene werden den T-Zellen präsentiert und von ihnen erkannt, woraus eine Aktivierung der beteiligten Zellen und der Autoantikörperproduktion resultiert. Eine ganze Reihe solcher die Autoantikörperproduktion „antreibenden“ T-Zell-Antigene wurde mittlerweile von verschiedenen Arbeitsgruppen identifiziert: Dabei handelt es sich in erster Linie um nukleare Antigene, wie Proteinbestandteile der Nukleosomen (v.a. Histonproteine)^[47-49] und Polypeptide aus dem Splicing-Apparat^[49-51].

Die Bedeutung dieser Autoantigene und der entsprechenden T-Zellen spiegelt sich darin wieder, dass sich in experimentellen SLE-Modellen der Krankheitsverlauf durch die Applikation von Autoantigenen modifizieren lässt. Durch Immunisierung mit Autoantigenen (gekoppelt an Carriermoleküle oder mit Adjuvantien) kann in jungen, prä-autoimmunen SLE-Mäusen der Ausbruch der Lupuserkrankung induziert werden – die Mäuse erkranken eher und leben kürzer^[26, 47, 48, 52].

Andererseits konnte in einigen Modellen gezeigt werden, dass die Applikation von Autoantigenen nach einem Tolerisierungs-/Anergisierungsschema den Krankheitsverlauf mildert und das Überleben der Mäuse verlängert^[53, 54]. Kalkül hierbei ist die Tolerisierung bzw. Anergisierung autoantigenspezifischer T-Zellen. Weshalb die Mäuse länger überlebten, ist letztendlich unklar. Theoretischen Modellvorstellungen zufolge können durch die Applikation von Autoantigenen autoreaktive T-Zellen deletiert oder anergisiert werden^[55]. Eine weitere Möglichkeit ist die Induktion von regulatorischen T-Zellen^[55, 56], welche den Krankheitsprozess aktiv unterdrücken.

1.2.1 Das SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎ Antigen

Das Sm-Antigen wurde gemeinsam mit den Anti-Sm-Antikörpern erstmals 1966 von Tan und Kunkel beschrieben – namensgebend war der Name Stephanie Smith, eine SLE Patientin, die Spenderin des entsprechenden Serums war.

Das Auftreten von Anti-Sm-Autoantikörpern ist hochspezifisch für den SLE, weshalb ihr Nachweis eines der Diagnosekriterien des American College of Rheumatology ist^[2]. Die Antikörper sind nicht nur diagnostisch relevant, sondern ihr Titer korreliert auch eng mit der Krankheitsaktivität und mit bestimmten klinischen Manifestationen wie renaler Beteiligung,

Serositis und Lungenfibrose^[57, 58]. Allerdings lassen sich die Anti-Sm-Antikörper nur bei 5-30% der SLE Patienten nachweisen, abhängig von der Nachweismethode und der ethnischen Herkunft der Patienten^[59, 60].

Bei dem Sm-Antigen handelt es sich nicht um ein einziges Protein, sondern um eine ganze Gruppe von Proteinen, benannt B, B', D1, D2, D3, E, F und G (Benennung nach der Mobilität der einzelnen Polypeptide im SDS-Page). Diese Proteine sind Kernbestandteile (Core-Proteine) der snRNP-Moleküle (small nuclear ribonucleoproteins), welche sich aus Protein und RNA zusammensetzen. Die snRNP's übernehmen eine Schlüsselfunktion beim Spleißen von prä-RNA zu mRNA^[61, 62], des weiteren bei der Prozessierung von tRNA und rRNA^[63]. Die Bedeutung der snRNP-Moleküle für die Funktion der Zelle spiegelt sich darin wieder, dass sie sich in allen eukaryonten Zellen finden und evolutionsbiologisch hochkonserviert sind^[63, 64]. In der Zelle liegen die Sm-Antigene hauptsächlich im Zellkern vor, sind aber auch im Zytoplasma nachweisbar^[65].

Jedes der einzelnen SmD-Proteine ist zwar eine potentielle Zielstruktur der Anti-Sm-Antikörper, die stärkste Reaktivität besteht allerdings gegen die B/B' und D1 Proteine. Da das SmD1-Protein eines der Hauptziele der Anti-Sm-Antikörper darstellt, versuchten verschiedene Forschergruppen das genaue Epitop der Antikörper innerhalb des Moleküls zu identifizieren. In Experimenten unserer Arbeitsgruppe zeigte sich, dass die Aminosäurekette AS 83-119 (SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎) am C-terminalen Ende des SmD1-Proteins die Hauptzielstruktur der Anti-Sm-Antikörper darstellt^[38].

In Folgeexperimenten wurde herausgefunden, dass 70% der SLE Patienten Autoantikörper mit einer Reaktivität gegen das SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎ Peptid aufweisen. Ein größerer Prozentsatz der Patienten reagiert also mit dem SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎ Peptid als mit dem SmD1 Gesamtprotein. Das legt die Schlussfolgerung nahe, dass es sich bei dem SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎ Peptid um ein verborgenes Epitop handelt, also ein Epitop, welches aufgrund der Molekülkonformation normalerweise nicht zugänglich ist. Ähnlich wie die Anti-Sm-Antikörper sind auch die Anti-SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎-Antikörper hochspezifisch für den SLE und korrelieren mit der Krankheitsaktivität^[38].

In Immunisierungsexperimenten mit präautoimmunen SLE Mäusen (BWF1- und MRL/lpr-Mäuse) konnte durch die Applikation des SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎ Antigens der Ausbruch des murinen Lupus beschleunigt werden. Die Tiere erkrankten verfrüht an einer Nephritis und zeigten erhöhte Anti-dsDNA-Ak-Titer^[52]. Interessanterweise wird durch die Immunisierung mit dem SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎ Antigen die Produktion von Anti-dsDNA-IgG stark angetrieben, während Anti-SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎-IgG-Antikörper erst im späteren Krankheitsverlauf nachgewiesen werden können. Demnach spielt das SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎ Antigen beim murinen SLE wahrscheinlich in erster Linie eine Rolle als ein die Anti-DNA-Autoantikörperproduktion „förderndes“ T-Zell Antigen.

In nachfolgenden Versuchen wurde *in vitro* mit Hilfe der ELISPOT-Technik gezeigt, dass SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎-spezifische T-Zellen T-Zell-Hilfe zur Anti-dsDNA-Ak-Produktion geben^[51].

Wahrscheinlich bindet das positiv-geladene SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎ Antigen an DNA (negativ geladen) und wird so als Konglomerat von anti-DNA spezifischen B-Zellen aufgenommen und den T-Zellen präsentiert.

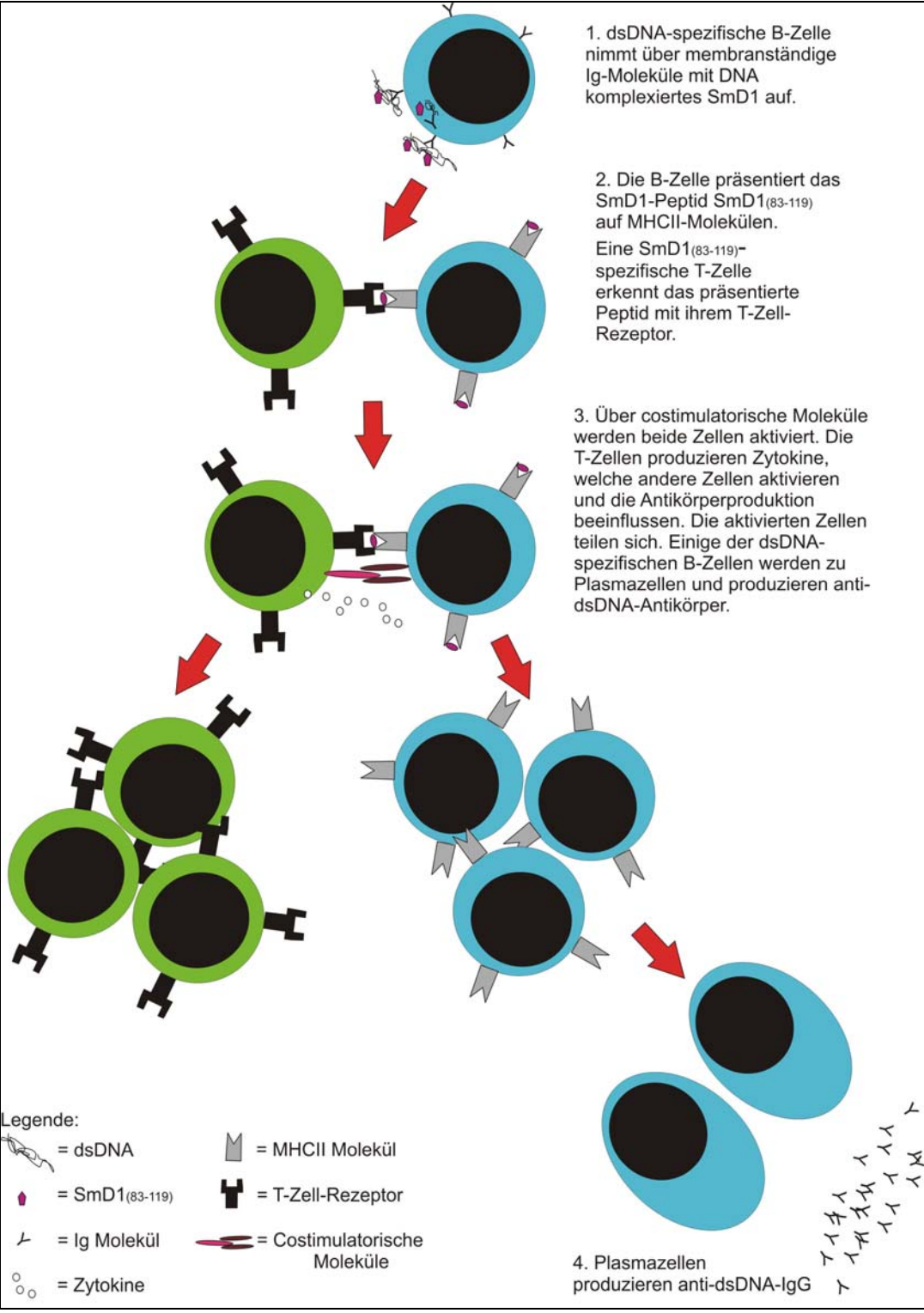


Abbildung 2: Mechanismus, wie SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎-spezifische T-Zellen dsDNA-spezifischen B-Zellen zur Autoantikörperbildung aktivieren könnten.

1.3 Pathogenese der SLE Endorganmanifestationen am Beispiel der Lupusnephritis

Die Lupusnephritis ist eine der typischen Endorganmanifestationen des systemischen Lupus erythematodes. Anfänglich präsentieren 25-50% der SLE Patienten Auffälligkeiten des Urins bzw. der Nierenfunktion, 60-80% der Patienten entwickeln renale Funktionsstörungen im Krankheitsverlauf^[66]. Das Auftreten und die Progredienz der Lupusnephritis sind einer der wichtigsten prognostischen Faktoren für den Verlauf der Lupus-Erkrankung^[67]. Die Pathogenese der Nephritis wird im Allgemeinen den Autoantikörpern zugeschrieben, insbesondere den Anti-DNA-Antikörpern. Morphologisch findet sich neben Ablagerungen von Antikörpern und Komplement in den Nieren allerdings auch eine markante Leukozyteninfiltration. Neben dem Effekt von Autoantikörpern kommt möglicherweise diesen einwandernden Entzündungszellen eine zentrale Rolle bei der Pathogenese der Lupusnephritis zu.

1.3.1 Autoantikörper und Lupusnephritis

Der gängigen Lehrbuchmeinung zur Genese der Lupusnephritis zufolge führt die Ablagerung von Autoantikörpern in den Glomeruli und konsekutiver Komplementaktivierung zur Zellschädigung und Entzündung des Nierengewebes^[68-70]. Tatsächlich finden sich bei der histologischen Aufarbeitung von Gewebeproben bei Lupusnephritis granuläre Antikörper(IgG)- und Komplementablagerungen. In Eluaten der Antikörper aus solchen Gewebeproben zeigt sich eine Akkumulation von u.a. Anti-DNA- und Anti-Nukleosomen-Autoantikörpern^[71, 72]. Den Anti-DNA-Autoantikörpern wird nicht zu Unrecht eine Schlüsselrolle bei der Entstehung der Nephritis zugeschrieben: Bei SLE Patienten korrelieren hohe Anti-DNA-Autoantikörpertiter mit der Nephritisinzidenz^[73-76]. In Mausmodellen kann durch den Transfer von bestimmten monoklonalen Anti-dsDNA-Autoantikörpern oder Anti-dsDNA-Ak produzierenden B-Zell-Hybridomen eine Nephritis induziert werden^[77, 78].

Verschiedene Mechanismen werden diskutiert, wie Autoantikörper zur Nephritis führen können:

- Anti-DNA-Ak's und andere Autoantikörper binden zirkulierendes Antigen und bilden Immunkomplexe. Diese Immunkomplexe lagern sich in den feinen Glomerulikapillaren ab, aktivieren das Komplementsystem und führen zur Entzündung (Reaktion Typ III nach Coombs).
- Nucleosomen bzw. die Bestandteile Histonprotein und DNA lagern sich an der Basalmembran der Glomeruli und im Mesangium ab^[79]. Liganden solcher Autoantigene in der Basalmembran könnten Heparansulfat^[80] und Kollagen Typ IV sein^[81, 82]. Die im Blut

zirkulierenden Autoantikörper binden dann das entsprechende in den Glomeruli fixierte Autoantigen und lösen eine Entzündungsreaktion aus.

- Einige Autoantikörper kreuzreagieren direkt mit Bestandteilen der Glomeruli. Beispielsweise wurde gezeigt, dass einige monoklonale Anti-dsDNA-Antikörper mit α -Actinin kreuzreagieren, welches sich in Glomeruli findet^[83]. Auf diese Weise können Autoantikörper direkt mit Nierenbestandteilen reagieren.

Gemeinsame Endstrecke dieser Mechanismen ist die Ablagerung von Autoantikörpern in den Nierenglomeruli und die lokale Aktivierung des Komplementsystems, infolgedessen es zur Entzündung und Zellschädigung kommt.

- Auf noch einem weiteren Weg könnten Autoantikörper zur Zellschädigung beitragen: Es konnte gezeigt werden, dass einige Anti-DNA-Antikörper lebende Nierenzellen binden und penetrieren^[84, 85]. Intrazellulär könnten die Antikörper auf noch unbekanntem Weg die Zellen schädigen.

1.3.2 Renale Leukozyteninfiltration

Im Zuge der Lupusnephritis kommt es zu einer markanten, fokal betonten Infiltration von mononukleären Zellen in das periglomeruläre und interstitielle Nierengewebe. Wie verschiedene immunhistochemische Untersuchungen an Biopsiematerial von SLE Patienten zeigen, handelt es sich dabei in erster Linie um T-Zellen^[86-90]. Konsistent wird von einer Praedominanz von CD4⁺ Zellen berichtet^[86-88, 90], allerdings finden sich auch CD8⁺ T-Zellen. Das Zahlenverhältnis CD4⁺:CD8⁺ Zellen wird schwankend von 4-5:1^[87] bis 1,5:1^[88] angegeben. Lediglich eine Untersuchung fand in 22 von 26 Gewebeproben ein Überwiegen von CD8⁺ Zellen^[91]. Möglicherweise finden sich im Nierengewebe auch doppelt-positive CD4⁺CD8⁺ T-Zellen, da in zwei Studien die Summe der CD4⁺ und CD8⁺ Zellen größer war als die Zahl der CD3⁺ Zellen^[86, 91].

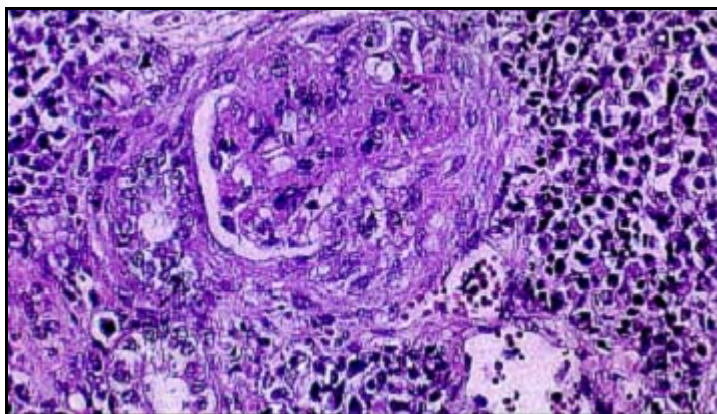


Abbildung 3: Das Bild zeigt das entzündete Nierengewebe einer nephritischen BWF1-Maus. Deutlich erkennbar ist die markante Infiltration von Leukozyten.

Die meisten T-Zellen exprimieren HLA-Dr^[87], was für einen aktivierten Phänotyp spricht. Allerdings fand eine andere Arbeitsgruppe nur eine geringe Expression von CD25^[88], welches ebenfalls auf aktivierten Zellen exprimiert wird. Aufgrund der Kinetik der CD25-Expression nach Zellaktivierung schließt der geringe CD25 Nachweis einen aktivierten Zustand der Zellen jedoch nicht aus.

Hinsichtlich der Zuordnung der CD4⁺-T-Zellen zum Th1 oder Th2 Typ gibt es kontroverse Berichte: Yamada et al. beschrieben eine überwiegende Expression des mit dem Th2 Typ assoziierten Chemokinrezeptors CCR4 auf den T-Zellen, während der mit dem Th1 Typ assoziierte Chemokinrezeptor CCR5 kaum nachgewiesen werden konnte^[92]. Segerer et al. hingegen fanden vor allem CCR5 positive Zellen^[93]. Die Arbeitsgruppe um Masutani et al. zeigte immunhistochemisch, dass die meisten T-Zellen IFN γ produzieren (also eher Th1 Typ), währenddessen kaum Produzenten des Th2-Markerzytokins IL-4 gefunden wurden^[90]. Bei der Analyse von T-Zellen aus den Nieren von MRL/lpr-Lupusmäusen hinsichtlich des Th1-Th2 Typs ergab sich ein heterogenes Bild: Eine Forschergruppe isolierte und klonierte mehrere T-Zellen aus dem entzündeten Nierengewebe; bei der Analyse der Zytokinproduktion dieser Klone mittels PCR ergab sich kein eindeutiger Trend, sondern es fanden sich sowohl IFN γ - als auch IL-4 Produzenten^[94].

Verschiedene Berichte beschreiben Makrophagen als die zweithäufigste infiltrierende Zellart^[86, 88-90]. Lediglich eine Arbeitsgruppe fand nur wenige Makrophagen in dem Zellinfiltrat^[87].

In geringem Ausmaß werden auch B-Zellen beschrieben^[86-88]. Die Häufigkeit von B-Zellen unter den infiltrierenden Zellen wird von selten^[87, 88] bis maximal 20%^[86] angegeben. Eine Publikation beschreibt, dass im BWF1-Lupus-Mausmodell antikörperproduzierende Plasmazellen im entzündeten Nierengewebe akkumulieren. Mit Immunhistochemie fand diese Arbeitsgruppe zahlreiche Plasmazellen im Niereninterstitium, aber kaum B-Zellen und keine Keimzentrumsstrukturen^[95].

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich in dem entzündeten Nierengewebe eine Infiltration von vor allem CD4⁺ T-Zellen, aber auch CD8⁺ T-Zellen findet. Die Zuordnung der CD4⁺-T-Zellen zum Th1 oder Th2 Typ ist unklar. Neben T-Zellen werden wahrscheinlich auch Makrophagen und in geringerem Ausmaß B-Zellen in das Niereninterstitium rekrutiert.

1.3.3 Mögliche Rolle der Leukozyteninfiltration in der Pathogenese der Lupusnephritis

Der etablierten Meinung zufolge kommt es durch die Ablagerung von Autoantikörpern und Immunkomplexen mit konsekutiver Aktivierung des Komplementsystems zur initialen Schädigung des Nierengewebes. Infolge der Entzündungsreaktion in den Nieren werden T-Zellen und andere Leukozyten durch Zytokine und Immunmediatoren in das Nierengewebe

rekrutiert. Diese sekundäre Infiltration von mononukleären Immunzellen trägt dann vermutlich lokal im Nierengewebe zur Inflammation und zur Organschädigung bei.

Zwei Beobachtungen zur Lupusnephritis passen allerdings nicht in dieses Konzept und lassen an der sekundären Natur des Entzündungsinfiltrates zweifeln:

1. Histologische Untersuchungen an Biopsiematerial von SLE-Nephritispatienten zeigen in fast allen Fällen eine Leukozyteninfiltration in das Nierengewebe. In einem Teil dieser Fälle gelingt jedoch kein Nachweis von Antikörper-, Immunkomplex- oder Komplementablagerung^[88, 89, 96, 97]. Demnach kann es auch ohne „initiale“ Schädigung durch Antikörper zu einer Leukozyteninfiltration und Entzündung der Nieren kommen.
2. Bei genetisch modifizierten MRL/lpr-Mäusen, deren B-Zellen nicht in der Lage sind, Antikörper zu sezernieren, kommt es trotz des völligen Fehlens von Autoantikörpern zur Nephritis mit Einwanderung von Leukozyten und zur Schädigung der Nieren. Das trifft allerdings nicht zu, wenn diesen Mäusen B-Zellen völlig fehlen – die B-Zellen werden als Antigen-präsentierende Zellen und damit T-Zell-Aktivatoren für die Lupuspathogenese benötigt. Die Sezernierung von Antikörpern ist für die Entstehung des Lupus demnach entbehrlich^[29].

Diesen Daten zufolge können die in das Niereninterstitium einwandernden Leukozyten, in erster Linie T-Zellen, primär zur Nephritis führen, ohne dass dazu die Wirkung von Antikörpern oder Immunkomplexen nötig wäre.

Es besteht kein Zweifel an der prinzipiell schädigenden Wirkung der Entzündungszellansammlung im Nierengewebe: Die Schwere der interstitiellen mononukleären Zellinfiltration in das Nierengewebe korreliert mit schlechter Nierenfunktion und schwerem klinischen Verlauf^[96, 98]. Auf Zellebene findet sich benachbart zu den fokale infiltrierenden Entzündungszellen eine besonders ausgeprägte reaktive Zellproliferation von Nierenzellen und ein Absterben von renalen Tubuluszellen^[99].

Wie das Entzündungszellinfiltrat zur Schädigung des Nierengewebes führt ist noch weitgehend Spekulation. Einiges spricht dafür, dass es sich um einen antigenspezifischen Prozess handelt: Akkumulation von vor allem CD4⁺ T-Zellen, hochregulierte Expression von MHCII Molekülen im Nierengewebe (Makrophagen und Tubulusepithelzellen)^[94, 100] und die Akkumulation von T-Zellen mit oligoklonalem T-Zell-Rezeptor Repertoire^[101, 102].

Allerdings konnte bisher kein entsprechendes Antigen identifiziert werden. Zahlreiche Meinungen gehen von einem renalen Antigen aus, gegen welches sich die zelluläre Immunreaktion im Nierengewebe richtet. Dafür spricht die histologische Ähnlichkeit und das Auftreten eines Entzündungsinfiltrates auch bei Nierenerkrankungen anderer Genese. Die zelluläre Immunreaktion gegen ein solches renales Antigen könnte die stereotype Endstrecke nach verschiedenen Arten einer initialen Nierenschädigung sein. Eine andere Möglichkeit ist,

dass es sich bei der Lupusnephritis um ein typisches SLE-Antigen handelt, das die zelluläre Immunreaktion in den Nieren antreibt. Das ist nicht unplausibel, da im Rahmen des SLE autoreaktive T-Zellen im Körper aktiviert werden und expandieren. Die typischen nukleären SLE-Antigene sind ubiquitär in allen Körperzellen vorhanden, also auch in den Nieren. Es ist also nicht unwahrscheinlich, dass zirkulierende autoreaktive T-Zellen auf „ihr“ Autoantigen in den Nieren treffen, möglicherweise nach initialer Vorschädigung und Entzündungsreaktion in den Nieren. In diesem Fall wären es die für den SLE charakteristischen gegen nukleäre Autoantigene reaktiven T-Zellen, welche die Nephritis propagieren und aufrechterhalten.

Ein potentieller Mechanismus, wie die infiltrierenden T-Zellen im Zusammenspiel mit Makrophagen und Tubuluszellen in einem antigenabhängigen Prozess zur Nierenschädigung führen, ist in Abbildung 4 dargestellt.

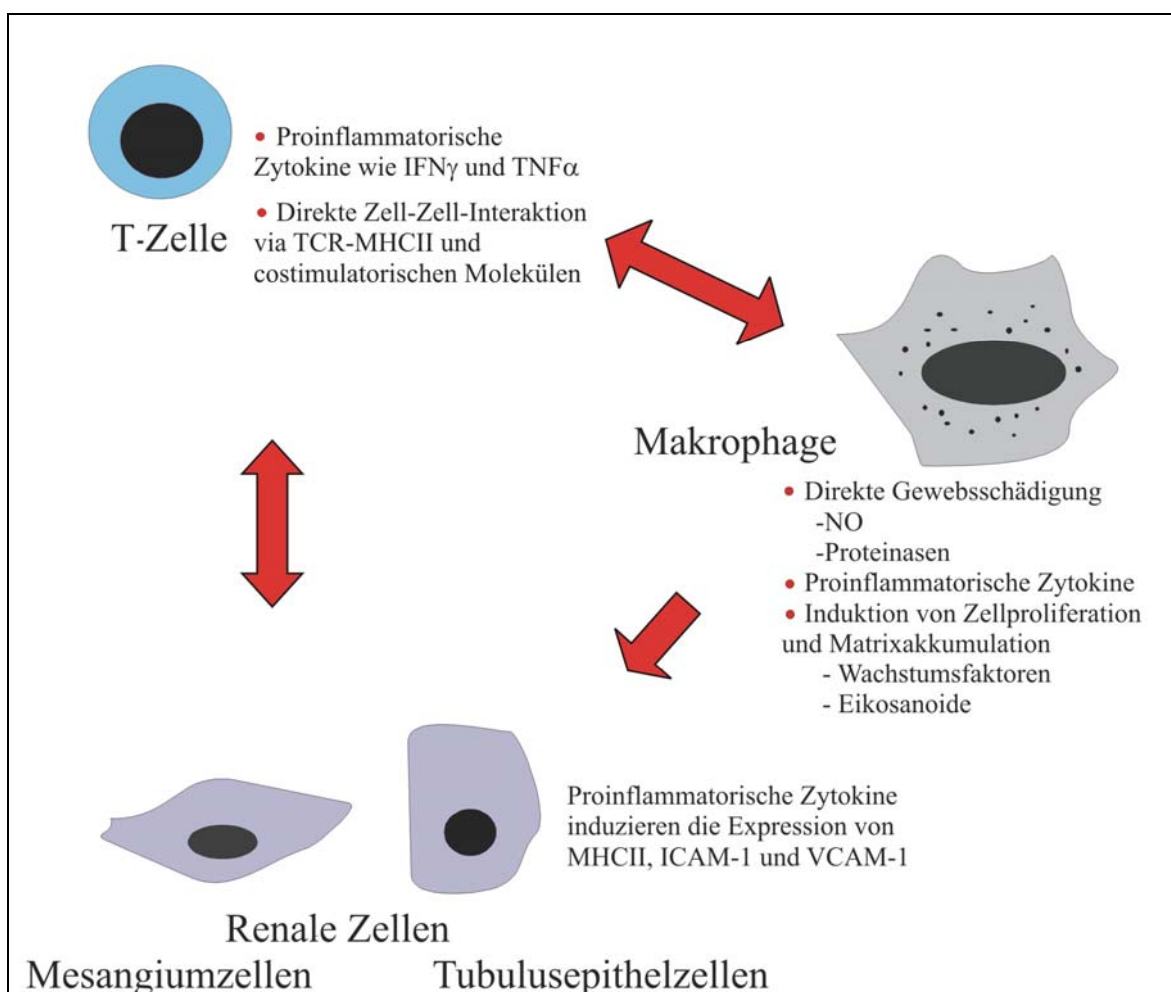


Abbildung 4: Möglicher Mechanismus der Interaktion zwischen T-Zellen, Makrophagen und Nierenzellen (modifiziert nach Kuroiwa und Lee^[103]).

Die CD4^+ T-Zellen im Entzündungsinfiltrat erkennen auf MHCII-Molekülen präsentiertes Antigen, was zur Aktivierung der T-Zellen führt. Diese produzieren daraufhin proinflammatorische Zytokine, die zur weiteren Rekrutierung von Immunzellen und zur

Aktivierung von Entzündungs- und Nierenzellen führen. Neben der Produktion von Zytokinen können die T-Zellen zellkontaktabhängig über die Erkennung von Antigen und die Wechselwirkung via costimulatorischer Moleküle Immunkzellen wie Makrophagen aktivieren. Die aktivierten Makrophagen produzieren ebenfalls proinflammatorische Zytokine wie $\text{IFN}\gamma$. Daneben können sie über die Freisetzung von Wachstumsfaktoren und Eikosanoiden die Proliferation von Nierenzellen und die Akkumulation von Matrixbestandteilen induzieren – was beides zur Schädigung der Nierenfunktion beiträgt. Durch die Abgabe von NO und Proteinase aus Makrophagen wird das Nierengewebe direkt geschädigt. Unter dem Einfluss der proinflammatorischen Zytokine exprimieren auch Nierenzellen vermehrt MHCII-, ICAM- und VCAM-Moleküle. Diese Moleküle ermöglichen eine direkte Interaktion von CD4^+ T-Zellen mit den Nierenzellen, was wahrscheinlich neben einer Aktivierung der T-Zellen auch zu einer direkten Schädigung der Nierenzellen führt^[103]. Dieser Mechanismus entspricht einer Organschädigung durch Th1 T-Zellen.

Möglicherweise interagieren die CD4^+ T-Zellen im Nierengewebe auch mit B-Zellen. Das wäre als Interaktion mit Th2 Typ CD4^+ T-Zellen im Sinne einer Induktion zur Antikörperbildung oder auch mit Th1 Typ CD4^+ T-Zellen im Sinne einer Modifizierung der Antikörperproduktion möglich. Es ist belegt, dass aktivierte B-Zellen in entzündetes Gewebe einwandern^[104] und sich in chronisch-entzündetem Gewebe Keimzentren zur B-Zell-Reifung bilden können^[105]. Es finden sich allerdings zumindest in den Nieren der BWF1-Lupus-Maus auch nach langem Nephritisverlauf keine Keimzentren^[95]. Das schließt eine Reifung von B-Zellen zu Plasmazellen im Nierengewebe dennoch nicht aus: Neuere Untersuchungen in dem autoimmunen MRL/lpr-Mausmodell zeigen, dass autoreaktive B-Zellen in untypische Areale außerhalb von Keimzentrumsstrukturen wandern und dort reifen können^[106, 107]. Eine Reifung von B-Zellen zu Plasmazellen in den Nieren ist demnach prinzipiell nicht auszuschließen. Vor dem Hintergrund, dass in den entzündeten Nieren von BWF1-Mäusen eine relevante Akkumulation von Ig sezernierenden Plasmazellen gefunden wurde^[95], erscheint diese Hypothese besonders interessant. Diese Plasmazellen könnten als Plasmazellen in die Nieren einwandern, aber auch lokal im Nierengewebe aus B-Zellen hervorgehen.

1.4 Verwendete Modelle für den systemischen Lupus erythematoses

In den Versuchen wurde mit den beiden Mausstämmen BWF1 und MRL/lpr gearbeitet. Beide Mausstämme gelten als murine Modelle für den SLE. In beiden Modellen finden sich B-Zell-Hyperreaktivität, T-Zell-Hilfe zur Autoantikörperproduktion und die für den SLE charakteristischen Antikörper gegen dsDNA und nukleäre Proteine/Peptide wie Sm^[50, 72, 108]. Sowohl BWF1 als auch MRL/lpr entwickeln eine Glomerulonephritis, welche in beiden Stämmen als die Haupttodesursache angesehen werden kann^[72].

1.4.1 BWF1

Der BWF1 oder auch NZB/NZW F1 Mausstamm gilt als das für den humanen SLE repräsentativste Mausmodell^[108]. Es handelt sich um die F1 Nachkommenschaft von New Zealand Black (NZB) und New Zealand White (NZW) Mäusen. Während die Eltern lediglich eine hämolytische Anämie entwickeln (NZB) bzw. weitgehend normal sind und nur gelegentlich im Alter eine Nephritis entwickeln (NZW), hat die F1 Generation eine deutlich verkürzte Lebenserwartung und entwickelt ein dem humanen SLE ähnliches Krankheitsbild. Die weiblichen BWF1-Mäuse erkranken früher und schwerer als ihre männlichen Geschwister mit einer mittleren Überlebenszeit von 245d gegenüber 406d bei den Männchen. Das dominante klinische Merkmal ist die Glomerulonephritis, weibliche BWF1 entwickeln zwischen dem 5 und 7 Lebensmonat eine zunehmende Proteinurie. Das histologische Bild entspricht einer chronisch obliterativen Glomerulonephritis mit Proliferation von Endothel und Mesangiumzellen, obliterativen Veränderungen, Infiltration von mononukleären Zellen und granuläre Ablagerung von C3 und IgG (v.a. IgG2a) in den Glomeruli, mesangial und tubulointerstitiell^[72, 108]. Weitere klinische Merkmale weiblicher BWF1-Mäuse sind eine leichte Lymphadenopathie, Splenomegalie, Myokardinfarkte und Atrophie des Thymus.

1.4.2 MRL/lpr

Der MRL/lpr-Mausstamm wurde 1976 von Murphy und Roths entwickelt. Im Unterschied zu den gesunden MRL(+/+) Mäusen, haben die MRL/lpr-Mäuse homozygot eine Mutation im autosomal-rezessiven *lpr*-Gen. Das *lpr*-Gen, benannt nach Lymphoproliferation, kodiert den Fas-Rezeptor, der bei Lymphozyten Apoptose auslösen kann und eine zentrale Rolle bei der Aufrechterhaltung der Lymphozytenhomöostase spielt^[109]. Aus „Backcross“-Studien weiß man allerdings, dass die *lpr*-Mutation nicht alleine für das SLE-ähnlich Krankheitsbild verantwortlich ist: Kreuzt man die *lpr*-Mutation auf andere Mausstämme (wie Balb/c, AKR, C57/BL6 u.a.), so zeigen diese Tiere zwar auch Lymphoproliferation und in einem gewissen Grad Autoantikörperproduktion, aber sie entwickeln keine Nephritis^[110]. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass neben dem *lpr*-Gen noch weitere prädisponierende Gene für die Entwicklung des murinen Lupus bei MRL/lpr entscheidend sind.

Klinisch wird das Krankheitsbild der Mäuse bestimmt von massiver Lymphoproliferation und Glomerulonephritis. Die Lymphoproliferation zeigt sich in einer bis zu 100fachen Vergrößerung der Lymphknoten und Splenomegalie. Die Lymphoproliferation lässt sich in erster Linie auf die Expansion einer atypischen T-Zell-Population zurückführen, die CD3 exprimiert und $\alpha\beta$ -T-Zellrezeptoren trägt, allerdings CD4-, CD8- und B220+ (sonst nur auf B-Zellen) ist. Die Glomerulonephritis zeigt sich bei Weibchen ab dem ersten bis dritten Lebensmonat als zunehmende Proteinurie, bei Männchen ungefähr einen Monat später. Das histologische Bild zeigt eine subakut-proliferierende Glomerulonephritis mit Proliferation von endothelialen und

mesangialen Zellen. Wie bei den BWF1-Mäusen kommt es auch hier zu granulären Ablagerungen von IgG und C3 und zur Infiltration von mononukleären Zellen^[72, 111]. Des Weiteren treten Thymusatrophie, Arteriitis, Myokardinfarkte und Arthritis auf. Aufgrund des aggressiven Krankheitsverlaufes ist die Lebenserwartung der Tiere gering (mittlere Überlebenszeit: Weibchen 143d, Männchen 154d).

Lange Zeit galten MRL/lpr-Mäuse als das einzige Lupus-Mausmodell, in welchem Anti-SmD-Antikörper auftreten^[72, 108, 112]. In neueren Untersuchungen konnte allerdings gezeigt werden, dass sich auch in BWF1-Mäusen regelhaft Anti-Sm-Antikörper nachweisen lassen^[50].

2 Eigene Fragestellungen

2.1 Charakterisierung der das Nierengewebe infiltrierenden Zellen mit FACS

Bisherige Informationen zu den das Nierengewebe infiltrierenden Zellen stammen fast ausschließlich aus histologischen und immunhistochemischen Untersuchungen, durchflusszytometrische Analysen von *ex vivo* aus den Nieren isolierten Zellen gab es bis dato nicht. Hinsichtlich der Charakterisierung dieser Zellen bestanden einige Unklarheiten, bzw. Ungereimtheiten zwischen den publizierten Untersuchungen – beispielsweise hinsichtlich der Zuordnung der T-Zellen zum Th1 oder Th2 Typ oder hinsichtlich des Aktivierungsgrades.

Da die Durchflusszytometrie (FACS) zur quantitativen Analyse von Zellen histologischen/immunhistochemischen Methoden überlegen ist, wählten wir diese Methode zur *ex vivo* Analyse der Leukozyten bzw. T-Zellen aus den Nieren von an Nephritis erkrankten BWF1-Mäusen. Die Zellen wurden hinsichtlich der Expression einer Reihe von Oberflächenmarkern und der Produktion von Zytokinen charakterisiert. Dabei sollte die Zellzusammensetzung der T-Lymphozyten, der Aktivierungsgrad, die Proliferationsaktivität und die Zuordnung zu naiven- oder Memory/Effektor-Zellen als auch zum Th1-Th2 Typ untersucht werden.

2.2 Funktionelle Untersuchung der renal infiltrierenden T-Zellen: Reaktivität mit dem SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎ Antigen?

Über die funktionellen Eigenschaften der in das Nierengewebe infiltrierenden T-Zellen ist wenig bekannt. Wir stellten uns die Frage, ob diese T-Zellen mit dem ubiquitär in Zellen vorkommenden SLE-Autoantigen SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎ reagieren.

2.3 Nachweis von T-Zell-Reaktivität auf das SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎ Antigen im MRL/lpr-Mausmodell

Die Reaktivität von T-Zellen auf das SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎ –Autoantigen wurde bisher nur bei BWF1-Mäusen charakterisiert. Im Verlauf der Untersuchungen wurde die Frage aufgeworfen, ob sich auch im MRL/lpr-Lupusmausmodell T-Zellen mit Reaktivität auf das SmD1₍₈₃₋₁₁₉₎ –Autoantigen nachweisen lassen.