

# 1 Einleitung

Hodgkin Lymphome gehören zu den häufigsten malignen Erkrankungen des lymphatischen Systems des Menschen. Auch bei Tieren wurden Einzelfälle von Hodgkin-ähnlichen Lymphomen beschrieben. Histologisch bestimmen Entzündungszellen wie T-Zellen, Makrophagen, Monozyten, Fibroblasten und eosinophile Granulozyten das Bild der Tumore. Sie umgeben die malignen Hodgkin/Reed Sternberg (H/RS) Zellen, die nur ca. 1 % des Tumors darstellen. Das vereinzelte Auftreten der Tumorzellen erschwerte deren Isolation und dadurch auch die Untersuchungen der Zellen bezüglich ihrer Abstammung und Eigenschaften. Eine Charakterisierung der malignen H/RS Zellen ermöglichte erst die von Küppers et al. 1993 entwickelte Methode der Mikromanipulation von Einzelzellen. Mit deren Hilfe wurde die Isolation der malignen Zellen aus dem Gewebe möglich. So konnte mittels PCR gezeigt werden, dass in den Zellen ein Rearrangement der Immunglobulingene stattgefunden hatte. Anhand des nachgewiesenen Rearrangements schloss man auf eine Abstammung der H/RS Zellen von Keimzentrum-B-Zellen. Anders als physiologische B-Zellen, die die Keimzentrumreaktion durchlaufen haben, in der sie nach der Antigenspezifität des B-Zell-Rezeptors selektiert wurden, bilden H/RS Zellen keine funktionsfähigen Immunglobuline. Unter physiologischen Bedingungen gehen solche B-Zellen in Apoptose.

Auf der Suche nach einer Ursache für das Überleben der Zellen konnten Bargou et al. 1996 die permanente Aktivität des Transkriptionsfaktors *Nuclear Factor- $\kappa$ B* (NF- $\kappa$ B) als ein gemeinsames Merkmal der H/RS Zellen beschreiben. Gründe der permanenten NF- $\kappa$ B Aktivität sind u. a. Mutationen im Inhibitor I $\kappa$ B $\alpha$  (Cabannes et al. 1999; Emmerich et al. 1999; Jungnickel et al. 2000), wodurch die Bindung an den Transkriptionsfaktor verhindert wird, oder dessen verstärkter Abbau (Krappmann et al. 1999). Weitere Arbeiten belegen, dass Zellen mit permanenter Aktivität von NF- $\kappa$ B stärker proliferieren und eine geringere Apoptoserate aufweisen als Zellen mit gehemmter NF- $\kappa$ B Aktivität (Bargou et al. 1997).

Um die Auswirkungen der permanenten NF- $\kappa$ B Aktivität *in vivo* studieren zu können, generierten verschiedene Arbeitsgruppen I $\kappa$ B $\alpha$ -defiziente Mäuse (Beg et al. 1995; Klement et al. 1996; Chen et al. 2000). Diese starben bereits 8 Tage nach der Geburt. Sie zeigten generalisierte Hautdefekte, hochgradige Granulozytose, Anämie, einen atrophierten Thymus und eine wegen der verringerten Zahl von B-Zellen verkleinerte Milz. Eine langfristige Untersuchung der permanenten NF- $\kappa$ B Aktivität (speziell in B-Zellen) *in vivo* erforderte die Transplantation von I $\kappa$ B $\alpha$ -defizienten hämatopoietischen Stammzellen in B-Zell-defiziente Empfängermäuse (Chen et al. 2000). In den Rezipienten entwickelten sich vergleichbare Mengen von B- und T-

Zellen. Bei Stimulation der B-Zellen *in vitro* proliferierten die B-Zellen 2-3 mal so stark im Vergleich zu B-Zellen mit physiologischer NF- $\kappa$ B Aktivität (Chen et al. 2000).

Der Einfluss des Transkriptionsfaktors auf die B-Zell-Entwicklung in unterschiedlichen Entwicklungsstufen wurde sowohl durch *in vitro* Versuche als auch in Mausmodellen nachgewiesen (Beg et al. 1995; Horwitz et al. 1997).

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurden B-Zell-defizienten Empfänger-mäusen hämatopoietische Stammzellen mit I $\kappa$ B $\alpha$ -Knockout transplantiert. Die Verwendung B-Zell-defizienter Rezipienten (Kitamura et al. 1991; Kitamura und Rajewsky 1992) erlaubte nach der Transplantation eine eindeutige Identifikation aller sich entwickelnder B-Zellen als I $\kappa$ B $\alpha$ -defizient. Die B-Zellen der Rezipienten zeichneten sich durch eine permanente Aktivität des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B aus und stimmten in diesem Merkmal mit H/RS Zellen überein.

Zusätzlich zur permanenten Aktivität von NF- $\kappa$ B exprimieren 50 % der H/RS Zellen Epstein-Barr Virus (EBV) Genprodukte (Kieff und Rickinson 2001). Von besonderem Interesse wegen seiner B-Zell-Rezeptor homologen Funktion war hier das latente Membranprotein 2A (LMP2A). In LMP2A transgenen Mäusen wurde gezeigt, dass bei Expression von LMP2A der Anteil an B-Zellen in Knochenmark und Milz verringert war und unter den sich entwickelnden B-Zellen ein hoher Anteil keinen B-Zell-Rezeptor aufwies (Caldwell et al. 1998; Caldwell et al. 2000). In diesem Merkmal stimmen sie mit H/RS Zellen überein.

Durch Transfektion von I $\kappa$ B $\alpha$ -defizienten hämatopoietische Stammzellen mit einem LMP2A-exprimierenden Retrovirus konnten im Rahmen dieser Dissertation erstmals beide Faktoren in einem Mausmodell kombiniert werden. Die Auswirkungen der permanenten Aktivität des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B, der Expression von LMP2A und der Kombination beider Faktoren auf B-Zellen wurden so erstmals in einem Mausmodell analysiert.