

1. Einleitung und Zielsetzung

1.1 Einleitung

Die Entwicklung des B-Zellrezeptor-Repertoires findet in einer Antigen unabhängigen und in einer Antigen abhängigen Phase statt. Die Umlagerung von Variablen- (V_h -), Diversity- (D_h -), und Joining- (J_h -) Gensegmenten und damit die Entstehung der kombinatorischen Vielfalt ist Antigen unabhängig. Aus 51 V-, 27 D,- und 6 J-Gensegmenten wird jeweils nur eines ausgewählt und aneinander gelagert (Cook 1995, Matasuda 1998). Der zufällige Einbau von Nukleotiden an den Verknüpfungsstellen durch das Enzym Desoxynucleotidyltransferase (TdT) führt zur junktionalen Vielfalt und ist ebenfalls Antigen unabhängig.

Der Einbau von somatischen Hypermutationen in die variable Region des B-Zellrezeptors findet dagegen erst nach Antigenkontakt statt. Durch die Entstehung von zumeist Punktmutationen kann die Affinität des Rezeptors zum Antigen erhöht werden. Ebenso ist der Klassenwechsel ein weiterer Antigen abhängiger Modifikationsschritt. Naive B-Lymphozyten tragen Immunglobuline der Klasse M auf ihrer Oberfläche. Nach Antigenkontakt kommt es zu einem Isotypenwechsel (Cooper 1987). Insgesamt gibt es fünf verschiedene Klassen von Immunglobulinen (IgM, IgG, IgA, IgE, IgD) mit jeweils unterschiedlichen Funktionen (Stavnezer 1996).

Frühgeborene besitzen zum Zeitpunkt der Geburt ein limitiertes B-Zellrezeptorrepertoire mit einer eingeschränkten junktionalen Vielfalt (Zemlin 2001). Am errechneten Geburtstermin weisen sie dann die gleiche junktionale Vielfalt wie Reifgeborene bei der Geburt auf (Bauer 2002). Die Entwicklung der CDR3-Region endet mit dem 2. Lebensmonat (Schröder 2001). In den V_h -Segmenten von Früh- und Reifgeborenen wurden zum Zeitpunkt der Geburt nur wenige Mutationen nachgewiesen (Bauer 2002). Die Mutationsraten steigen sowohl bei Reifgeborenen (Ridings 1996) als auch bei Frühgeborenen (Bauer 2002) in den ersten Lebensmonaten an. Eine vergleichende Untersuchung der Affinitätsreifung von Früh- und Reifgeborenen gab es bisher noch nicht. Weitere Untersuchungen bei Neugeborenen ergaben, dass nur wenige IgG exprimierende B-Zellen im Nabelschnurblut vorhanden sind (Wedgwood 1997). Auch bei Frühgeborenen kommen nur wenige IgG exprimierende B-Zellen im Nabelschnurblut vor. Nach Antigenkontakt kommt es zur Vergrößerung der Population IgG exprimieren-

den B-Zellen. Auch zum Klassenwechsel gibt es noch keine vergleichende Untersuchungen von Früh- und Reifgeborenen.

1.2 Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist, die Reifung und Entwicklung des Immunsystems nach Antigenkontakt im Vergleich von Reif- und Frühgeborenen darzustellen. Dazu werden die Diversität der IgG-B-Zellklone von Reifgeborenen und Frühgeborenen in den ersten 4 Lebensmonaten und die Frequenz somatischer Mutationen in der variablen Region der schweren Kette des B-Zellrezeptors analysiert.

Folgende Fragen sollen beantwortet werden:

1. Gibt es einen Unterschied bei der Entwicklung des Klassenwechsels zwischen Reifgeborenen und Frühgeborenen?
Hierzu wurden die Diversität der B-Zellklone in Abhängigkeit vom Alter miteinander verglichen.
2. Gibt es Unterschiede im Verlauf der Affinitätsreifung bei FG und RG?
Hierzu wurden die Mutationsfrequenzen im CDR2- und FR3-Bereich miteinander verglichen.
3. Findet die Selektion bei FG im Vergleich zu RG verzögert statt?
Anhand der Verteilung der Frequenzen im CDR2- und FR3-Bereich sowie der Frequenzen von silenten und replacement Mutationen ist eine Aussage über eine stattgefundenene Selektion möglich.