

## 2.Hintergrund

### 2.1 Der B-Zellrezeptor

Das Immunsystem besteht aus einem angeborenen und aus einem adaptiven System. Zum angeborenen System gehören u.a. NK-Zellen und Makrophagen, deren Rezeptorrepertoire festgelegt ist. Das adaptive Immunsystem besitzt ein variables Rezeptorrepertoire zur Bindung von Antigenen und die Fähigkeit zur Entwicklung von Gedächtniszellen. Neben den T-Zellen sind die B-Zellen die zentrale Zellpopulation des adaptiven Immunsystems. B-Zellen können ihren Antigenrezeptor in membranständiger Form exprimieren oder als Antikörper (AK) sezernieren. Der B-Zellrezeptor ist ein multimeres Protein, das aus zwei identischen schweren (H = heavy) und zwei identischen leichten (L = light) Ketten besteht (Tonegawa 1983), die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. In der Keimbahn werden 2 verschieden leichte Ketten ( $\lambda$ ,  $\kappa$ ) und 5 verschieden schwere Ketten ( $\mu$ ,  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ) codiert. Die Ketten besitzen jeweils eine konstante und eine variable Region. Die variable Region ist für die Bindung an Antigene verantwortlich. Die konstante Region definiert 5 verschiedene Immunglobulinklassen mit unterschiedlichen Effektorfunktionen (Tonegawa 1983). Sie bestehen aus drei Abschnitten ( $C_H$  1-3).

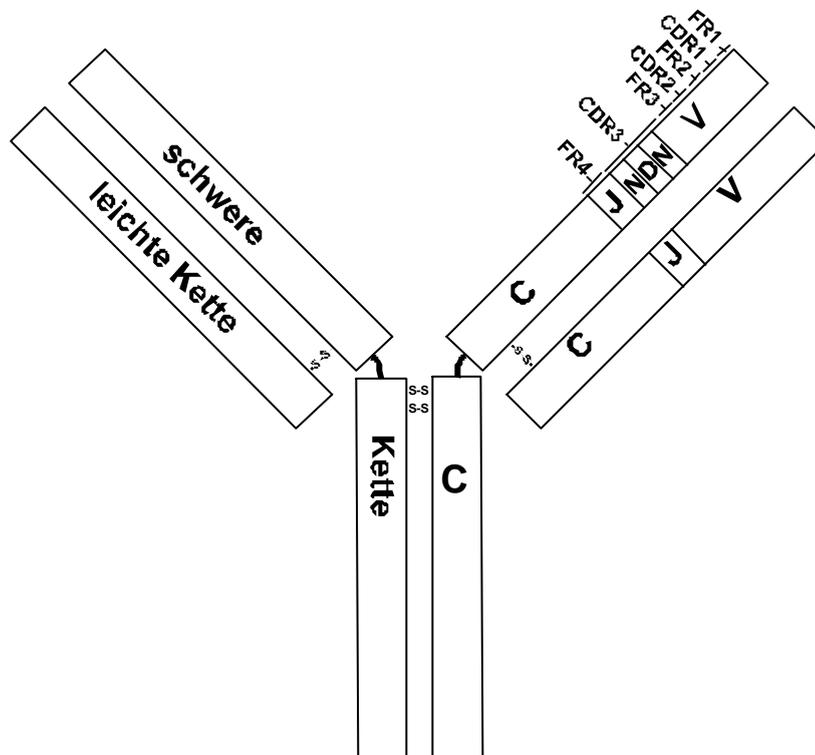


Abb. 2.1: Schematische Darstellung eines B-Zell-Rezeptors

In der variablen Region jeder Kette gibt es drei hypervariable Regionen, die CDR-Regionen (Complementarity determining regions). Sie bestimmen die Antigen-spezifität. Die größte Bedeutung für die Antigenbindung hat die CDR 3-Region. Sie hat die größte Variabilität (Xu 2000). Zwischen den CDR-Regionen finden sich weniger variable FR-Regionen (Framework regions) (Tonegawa 1983). Sie sind für die Gerüstbildung verantwortlich. In der variablen Region der schweren Kette gibt es vier FR.

## **2.2 Bildung des funktionellen B-Zellrezeptorgens**

B-Zellen entwickeln sich aus Stammzellen im Knochenmark bzw. im ersten Trimenon in der Leber. Während der B-Zellreifung wird durch Genumlagerungen in jeder B-Zelle ein individuelles funktionelles B-Zellrezeptorgen gebildet. Zunächst werden die Gene für die schwere Kette umgelagert. Aus 51 Variablen (Vh)-, 27 Diversity (Dh)- und 6 Joining (Jh)-Gensegmenten (Cook 1995, Matasuda 1998) wird jeweils nur eines ausgewählt und aneinandergelagert. Die Umlagerung findet in zwei Stufen statt: 1. die Umlagerung von D und J und 2. die Umlagerung von V und DJ. Zwischen den umgelagerten Gensegmenten fügt das Enzym Deoxynucleotidyltransferase (TdT) zufällige Nukleotide ein (Grawunder 1998). In diesem Stadium exprimiert die Zelle keinen Antigenrezeptor und wird als Pro-B-Zelle bezeichnet. Nach der vollständigen Umlagerung der schweren Kette wird ein Rezeptor exprimiert, der aus der schweren Kette und einem Ersatz für die leichte Kette besteht. Die Zelle wird als große Prä-B-Zelle bezeichnet. Nach mehrmaliger Zellteilung wird die Expression des Rezeptors herunterreguliert und mit der Umlagerung der leichten Kette begonnen. Nach der Umlagerung exprimiert die B-Zelle ein membranständiges, vollständiges IgM-Molekül im B-Zell-Rezeptorkomplex und wird als unreife B-Zelle bezeichnet. In diesem Stadium findet die negative Selektion autoreaktiver B-Lymphozyten statt. Die Zellen, deren Rezeptor gegen körpereigene Moleküle gerichtet ist, werden apoptotisch. Die überlebenden B-Zellen exprimieren zusätzlich ein IgD-Molekül und wandern als naive B-Zelle in die sekundären lymphatischen Gewebe (Lymphknoten, Milz) (Janeway 2002).

### 2.3 Entwicklung der B-Zelle nach Antigenkontakt

Die weitere Entwicklung der B-Zelle ist antigenabhängig (siehe Abb. 1.2). Wenn ein Antigen sich an einen B-Zellrezeptor (BCR) bindet, wird es in die Zelle geschleust und an MHC II-Komplexe gebunden an der Oberfläche präsentiert. T-Zellen, die über ihren T-Zell-Rezeptor (TCR) den MHC II-Antigen-Komplex erkennen, aktivieren B-Zellen (Rajewsky 1996). Dies geschieht in der T-Zellzone des peripheren lymphatischen Gewebes. Durch die klonale Vermehrung beider Zellen bildet sich ein Primärkomplex (Jacob 1991a). Einige B-Zellen differenzieren sich zu Plasmazellen und sezernieren Antikörper (McHeyzer-Williams 2005). Andere T- und B-Zellen wandern in einen primären Follikel ein, proliferieren weiter und bilden ein Keimzentrum.

#### 2.3.1 Somatische Mutationen

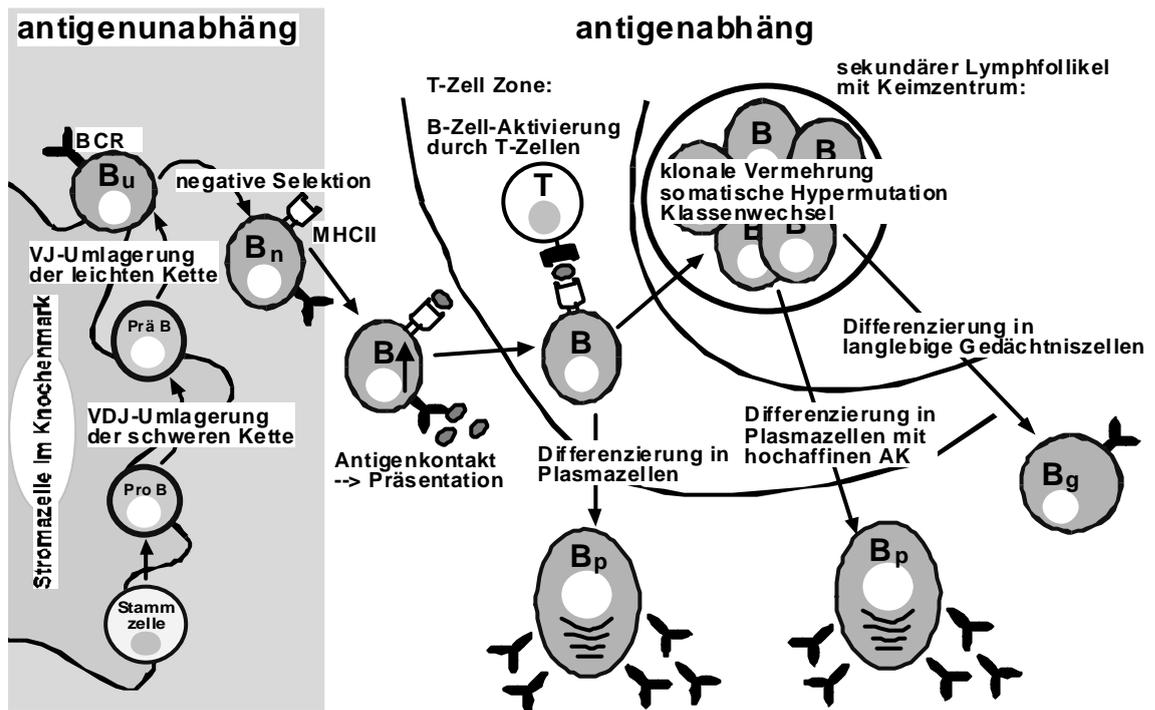
Während der klonalen Vermehrung im Keimzentrum werden in der variablen Region auf DNA-Ebene somatische Hypermutationen gesetzt (Jacob 1991b). Der Hypermutationsprozess ist sehr komplex und noch in vielen Schritten unverstanden. Es entstehen vorzugsweise Punktmutationen (Wagner 1996). Die Verteilung dieser Mutationen ist nicht zufällig, es gibt bevorzugte Nukleotidsequenzen, so genannte hotspots (Betz 1993). Die Mutationen werden in replacement und silente (stumme) Mutationen eingeteilt. Replacement Mutationen verändern die Aminosäureabfolge, silente Mutationen nicht. Die Mutationsrate liegt bei  $10^{-3}$  bis  $10^{-4}$  pro Basenpaar (bp) pro Generation (Berek 1987). Die Activation Induced Deaminase (AID) wird für den Hypermutationsprozess benötigt (Muramatsu 2000). Die AID triggert die Deamination von dC zu dU (Petersen-Mahrt 2002). B-Zellen AID defizienter Mäuse haben einen Defekt in der Hypermutationsbildung (Muramatsu 2000) Ein weiteres beteiligtes Enzym ist die Uracil-DNA-Glycosylase (UNG). Sie schneidet das durch die AID entstandene Uracil heraus. UNG defiziente Mäuse zeigten keine Verminderung der Mutationsfrequenz, jedoch ein verändertes Mutationsmuster (Storb 2002). Nach dem Hypermutationsprozess durchlaufen die B-Zellen eine positive Selektion. Die Zellen, deren Affinität angestiegen ist, überleben.

#### 2.3.2 Klassenwechsel

Ein weiterer Modifikationsschritt ist der Klassenwechsel. B-Lymphozyten können unterschiedliche konstante Regionen, je nach Immunantwort, exprimieren. Die variable Region bleibt konstant (Cooper 1987). Der Klassenwechsel erfolgt durch Rekombination von Schalterregionen, die vor jedem Genabschnitt der C-Region liegen. Diese Schalterregionen enthal-

ten repetitive Nukleotidsequenzen (AGCT: GGGG). Die zwischen den Schalterregionen liegende DNA wird herausgeschnitten (Stavnezer 1996).

Die selektierten B-Zellen differenzieren sich zu Antikörper sezernierenden Plasmazellen oder zu langlebigen Gedächtniszellen (MacLennan 1994).



**Abb.2.2: Schematische Darstellung der antigenunabhängigen und antigenabhängigen B-Zell-Entwicklung**

Antigenunabhängig: B-Zellen entwickeln sich aus Stammzellen. Zunächst werden die Gene für die schwere Kette umgelagert. Die Zelle wird als Pro-B-Zelle bezeichnet und exprimiert keine Oberflächenmoleküle. Ist die schwere Kette vollständig umgelagert, exprimiert die Zelle (Prä-Zelle) einen Rezeptor mit der schweren Kette und einem Ersatz für die leichte Kette. Im Anschluss werden die Gene der leichten Kette umgelagert (unreife B-Zelle, Bu). Nach der negativen Selektion wandert die naive B-Zelle (Bn) ins sekundäre lymphatische Gewebe (Janeway 2002).

Antigenabhängig: Bei Antigenkontakt wird das am BZR gebundene AG in die Zelle geschleust und anschließend am MHCII-Molekül an der Oberfläche präsentiert (Rajewsky 1996). Die B-Zelle wandert in die T-Zellzone und wird durch eine T-Zelle aktiviert. Durch klonale Vermehrung entsteht ein primärer Fokus (Jacob 1991a). Aus diesem Fokus differenzieren sich einige B-Zellen zu Plasmazellen (Bp) (McHeyzer-Williams 2005) und andere wandern in einen primären Follikel und bilden dort ein Keimzentrum. Dort finden weitere Modifikationsschritte statt: somatische Hypermuation, Affinitätsreifung und Klassenwechsel. Später differenzieren sich die Zellen entweder zu Plasmazellen (Bp) oder zu langlebigen Gedächtniszellen (Bg) (MacLennan 1994).