

5. Zusammenfassung

Eine Voraussetzung, um die Rolle des Epstein-Barr Virus (EBV) bei der Entstehung EBV-assoziiierter Tumore zu verstehen, ist die Identifizierung und Charakterisierung der primär vom EBV-infizierten Zelle. Lange Zeit bestand die Annahme, EBV infiziere primär Epithelzellen im Oropharynx, von denen sekundär eine Infektion von benachbarten B-Lymphozyten stattfindet. Dieses Konzept konnte durch Untersuchungen von Karajannis et al. widerlegt werden, welche zeigten, dass B-Zellen die primäre Zielzelle des EBV darstellen. In der vorliegenden Arbeit sollte anhand der Analyse des IgH-Mutationsstatus die Frage geklärt werden, welche Differenzierungsstufe primär infizierte EBV-positive Zellen aufweisen und welchen Weg EBV nimmt, um in den post-Keimzentrumsgedächtniszellpool, den Ort der lebenslangen EBV-Persistenz, zu gelangen. Dazu wurden in drei Tonsillen und einem Lymphknoten von vier Patienten mit Infektiöser Mononukleose EBV-positive Zellen anhand der Expression von LMP-1 und EBNA-2 identifiziert, mittels hydraulischer Mikromanipulation einzeln isoliert und einer „single copy“ PCR zur Amplifikation des Immunglobulinschwerkettengens (IgH) unterzogen: Von 175 EBV-infizierten Zellen konnten die umgelagerten IgH-Gene sequenziert und mit bekannten VH-Keimbahnsegmenten verglichen werden. Dabei zeigten 44% somatische Mutationen in ihren umgelagerten IgH-Genen; 53% waren unmutiert. In 3% konnte die genaue Zahl der somatischen Mutationen aufgrund zahlreicher Alterationen nicht bestimmt werden. Unter den 175 sequenzierten EBV-positiven Zellen waren neben 119 Zellen mit individueller IgH-Umlagerung auch 56 Zellen, die aufgrund der übereinstimmenden IgH-Umlagerung 14 verschiedene Klone bildeten, wovon drei Klone aus Keimzentrumzellen bestanden. Die Zellen von zwei der drei Keimzentrumklone zeigten intraklonale Diversität, zu einem Klon gehörte neben den Keimzentrumzellen zusätzlich eine Zelle, die in der Mantelzone isoliert worden war. Der Vergleich zwischen LMP-1- und EBNA-2-positiven Zellen ergab, dass LMP-1-positive Zellen häufiger nicht funktionale und nicht antigenselektierte Immunglobulingene aufwiesen. Der Nachweis von EBV-positiven unmutierten (naiven) und mutierten (post-Keimzentrum-) B-Zellen sowie das Auftreten von intraklonal diversen EBV-infizierten Keimzentrum-B-Zellen belegt eindeutig, dass EBV-positive post-Keimzentrum-(Gedächtnis)-Zellen durch die Keimzentrumreaktion aus naiven EBV-positiven prä-Keimzentrum-Zellen entstehen. Das häufige Auftreten von nicht funktionalen bzw. nicht antigenselektierten EBV-positiven Zellen spricht für eine antiapoptotische Rolle des EBV in diesen ansonsten nicht lebensfähigen Zellen. Dies unterstreicht die Rolle des EBV als wichtigen Faktor bei der Entstehung EBV-positiver Lymphome.