

2 Einleitung

Das Immunsystem stellt einen Schutzmechanismus des Organismus vor Krankheitserregern und körperfremden Stoffen dar und ist für die Erkennung körpereigener entarteter Zellen verantwortlich. Im Laufe der Evolution hat es sich zu einem komplexen System entwickelt, das sich in seiner am meisten ausgereiften Form bei den höheren Wirbeltieren findet und bei dem die Interaktionen einer Vielzahl von spezialisierten Organen, Zellen und Molekülen eine Rolle spielen. Damit das rasche Aufspüren sowie Eliminieren von Pathogenen sowie entarteten Zellen möglich ist, erfolgt eine kontinuierliche Zirkulation und Migration von Immunzellen durch den Körper.

2.1 Angeborene und adaptive Immunität

Man unterscheidet grundsätzlich zwei Arten von Immunantworten: die angeborene und die adaptive (spezifische). Im Falle einer Infektion wird zunächst die angeborene unspezifische Immunantwort ausgelöst, die in den meisten Fällen ausreichend ist, um die Immunabwehr sicherzustellen. Die hierbei beteiligten Zellen sind vor allem Makrophagen, neutrophile Granulozyten und natürliche Killerzellen. Die beiden erstgenannten können eingedrungene Bakterien aufgrund bestimmter Strukturen an deren Oberfläche erkennen und phagozytieren. Außerdem haben aktivierte Makrophagen die Fähigkeit, biologisch aktive Moleküle zu sezernieren, die man Zytokine nennt und die eine entzündliche Reaktion im betroffenen Gewebe provozieren können. Dazu gehört die Dilatation und erhöhte Permeabilität von Blutgefäßen im entzündeten Gebiet, welche die Kardinalsymptome einer akuten Entzündung in Erscheinung treten lassen. Dabei handelt es sich um Calor (Wärme), Dolor (Schmerz), Rubor (Rötung), Tumor (Schwellung) und Functio laesa (gestörte Funktion). Am Endothel der Blutgefäße ändern sich die Adhäsionseigenschaften, so dass patrouillierende Leukozyten (zunächst weitere Phagozyten wie neutrophile Granulozyten) besser haften bleiben und dann durch die Wände der Blutgefäße wandern können. Wichtige biologisch aktive Moleküle sind bei diesem Vorgang Chemokine, deren Aufgabe es ist, Zellen aus dem Blut ins Gewebe zu locken. Dort werden dann von den Zellen weitere Mediatoren freigesetzt, die zur Eliminierung des Pathogens beitragen und in manchen Fällen auch für die spätere adaptive Immunantwort eine Bedeutung haben. Das angeborene Immunsystem stellt einen schnell verfügbaren Abwehrmechanismus gegen viele unterschiedliche Erreger dar und schafft die Voraussetzungen für die spezifische Immunantwort. Da eine initiale adaptive Immunantwort

erst nach einem Zeitraum von 4-6 Tagen effektiv wird, stellt die angeborene Immunität bis zu diesem Zeitpunkt den wichtigsten Schutz auch bei spezifischen Antworten dar.

Wenn das angeborene Immunsystem in den Körper eingedrungene Krankheitserreger nicht ausreichend eliminieren kann, so kommt es zur Aktivierung der adaptiven Immunantwort, die auch als erworbene Immunität bezeichnet wird. Charakteristisch für diese ist, dass es sich dabei um eine spezifische Antwort auf ein Pathogen handelt. Eine entscheidende Rolle spielen hierbei Lymphozyten, die Teile von Pathogenen, so genannte Antigene, mit Hilfe von Rezeptoren auf ihrer Oberfläche binden können. Ein Lymphozyt erkennt also ein Antigen mit seinem Rezeptor, welcher die erwähnte Spezifität für genau dieses Antigen aufweist. Daraufhin erfolgt eine Aktivierung der Lymphozyten, die zu einer Proliferation und somit zur klonalen Expansion führt. Daraus resultieren viele identische Kopien dieser Zelle, die als Effektorzellen zur Bekämpfung der Krankheitserreger zur Verfügung stehen. Außerdem bringt dies die wohl bemerkenswerteste Eigenschaft der adaptiven Immunantwort hervor: die Entstehung des immunologischen Gedächtnisses. Das Immunsystem besitzt aufgrund der bereits bestehenden Antigen-spezifischen Lymphozytenpopulation die Fähigkeit, bei erneutem Kontakt mit demselben Antigen einen schnelleren und effektiveren Schutz als beim Erstkontakt zu bieten. Durch die unterschiedlichen, jedoch miteinander verzahnten Aufgaben ergänzen sich angeborene und adaptive Immunität in der Abwehr von Krankheitserregern und bieten in den meisten Fällen einen wirkungsvollen Schutz.

2.2 Lymphozyten und lymphatische Organe

2.2.1 B- und T-Lymphozyten

Das Immunsystem höherer Wirbeltiere besteht aus einer Vielzahl von unterschiedlichen Zellarten, unter denen die Lymphozyten eine zentrale Rolle einnehmen. Man unterscheidet grob zwei Arten dieser Zellen, nämlich die B-Lymphozyten, die sich zu Antikörper-sezernierenden Plasmazellen ausdifferenzieren können, und die T-Lymphozyten. T-Zellen, die das Oberflächenmolekül CD4 besitzen (CD4⁺-T-Zellen), haben wichtige regulatorische Aufgaben wie Aktivierung oder Inhibierung von Effektorzellen während der Immunantwort. CD8⁺-T-Zellen sind an der Lyse virusinfizierter Zellen und auch an der Tötung von entarteten Zellen beteiligt. B- und T-Lymphozyten gemeinsam ist die Eigenschaft, ein sehr diverses Repertoire an Antigenrezeptoren ausbilden zu können, wobei eine einzelne Zelle immer nur Rezeptoren derselben Spezifität an ihrer Oberfläche trägt, also monospezifisch ist. Die Diversität der Rezeptoren spiegelt sich darin wieder, dass Millionen im Körper vorhandene

Lymphozyten Millionen unterschiedliche Rezeptorspezifitäten aufweisen, woraus sich die Fähigkeit eines Individuums ergibt, eine große Vielzahl von Fremdanigenen zu erkennen. Bei den Säugetieren erfolgt die Entwicklung der Lymphozyten im speziellen Milieu der zentralen oder auch primären lymphatischen Organe. Beide Arten von Lymphozyten gehen im Knochenmark aus einer gemeinsamen Vorläuferzelle hervor, ihre Reifung geschieht jedoch an unterschiedlichen Orten, nach denen sich die Nomenklatur dieser Zellen richtet. Die B-Zellen sind nach der „Bursa fabricii“ benannt. Dabei handelt es sich um ein lymphoides Organ in der Kloake von Vögeln, in dem diese Zellen zuerst entdeckt wurden. Inzwischen wird es aber auch als Abkürzung für „bone marrow-derived“ (englisch für „aus dem Knochenmark stammend“) gebraucht und bezieht sich dabei auf den Ort der Reifung dieser Zellen beim Säugetier. T-Zellen („thymus-derived“) dagegen migrieren zum Thymus, um ihre Reifungsprozesse zu vollziehen. Während ihrer Entwicklung durchlaufen die Lymphozyten Umordnungen in ihren Keimbahnen. Dabei erfolgt eine zufällige Kombination von Gensegmenten als Grundlage für die Diversität der Antigenrezeptoren. Diese so genannte somatische Rekombination ermöglicht beim Vorhandensein von nur einigen hundert Gensegmenten die Entstehung einer großen Vielfalt von Rezeptoren, obwohl nur ein Teil der ursprünglich erzeugten Rezeptorspezifitäten die sich anschließenden strengen Selektionsprozesse überlebt. Die meisten Lymphozyten, deren Rezeptoren defekt sind oder ubiquitär vorhandene Selbstantigene erkennen, werden noch in den zentralen lymphatischen Organen eliminiert. Sie unterliegen dem programmierten Zelltod (auch Apoptose genannt), oder werden inaktiv. Nur wenn die Zellen diese Selektion überstehen, können sie ausreifen und in die Peripherie wandern. Kommt es in der Peripherie zu einer Infektion, so nehmen phagozytierende Zellen große Mengen von Antigen auf und wandern damit in die sekundären lymphatischen Organe, wo sie es rezirkulierenden T-Zellen präsentieren, die dadurch aktiviert werden können und dann wiederum helfen, B-Zellen zu aktivieren. Die Antigen-spezifischen Lymphozyten proliferieren und differenzieren dann zu Effektorzellen, die die sekundären lymphatischen Organe über efferente Lymphbahnen verlassen und auf dem Blutweg zum Ort der Infektion gebracht werden.

2.2.2 Grundstruktur lymphatischer Organe

Zu den peripheren lymphatischen Organen gehören die Milz, in die Antigene aus dem Blut gelangen, die Lymphknoten, die über afferente Lymphgefäße Antigene aus dem sie umgebenden Gewebe sammeln, sowie die mukosa-assoziierten lymphatischen Gewebe (mucosa-associated lymphoid tissues, MALT). Zu letzteren gelangen Antigene von den Oberflächenepithelien, z.B. des Magen-Darm Traktes (gut-associated lymphoid tissues,

GALT, dazu gehören unter anderem die Rachenmandeln, Gaumenmandeln, Peyersche Plaques und der Blinddarm) oder des Atmungstraktes (bronchial-associated lymphoid tissues, BALT). Obwohl sich Milz, Lymphknoten und MALT äußerlich deutlich unterscheiden, ist ihr Grundaufbau ähnlich. Sie besitzen ein bindegewebiges Grundgerüst aus Stromazellen, das bei Milz und Lymphknoten eine Kapsel bildet. B-Zellen sind in so genannten Follikeln lokalisiert, während die T-Zellen eher unregelmäßig verteilt in den umgebenden T-Zell-Bereichen sitzen. B-Zell-Follikel enthalten Keimzentren, in denen die Zellen stark proliferieren, nachdem sie ihrem spezifischen Antigen und T-Helferzellen begegnet sind. In der Milz unterscheidet man histologisch die rote und die weiße Pulpa. Die rote besteht im Wesentlichen aus venösen Sinusoiden, man findet in ihr Erythrozyten, aber auch Makrophagen und Plasmazellen. Die weiße Pulpa hingegen besteht aus den Milzfollikeln, in denen nach Induktion von Keimzentren durch eine T-Zell-vermittelte Immunantwort außer B-Zellen auch follikuläre dendritische Retikulumzellen zu finden sind. Außerdem zählt man zur weißen Pulpa die lymphatischen Stränge um eine Zentralarterie (periarterielle Lymphozytenscheide, PALS), in der sich hauptsächlich T-Zellen sowie Antigen-präsentierende Zellen wie beispielsweise dendritische Zellen (DCs) befinden. In der Randzone zur roten Pulpa, die Follikel und PALS umgibt, findet man spezielle B-Zellen und Makrophagen. Trabekuläre Arterien im bindegewebigen Grundgerüst der Milz bringen das Blut in die PALS. Dort verzweigen sie sich als Zentralarterien in zahlreiche Seitenäste, die sich nach Durchquerung der Lymphfollikel in das Maschenwerk der Marginalzone bzw. in die Sinusoide der roten Pulpa öffnen.

2.3 Die humorale Immunantwort

Die spezifische Immunantwort lässt sich in die zelluläre und die humorale Immunantwort einteilen. Erstere bekämpft hauptsächlich intrazelluläre Erreger (Viren, bestimmte Bakterien und Protozoen) und entartete Zellen. Hierbei spielen zytotoxische T-Zellen neben den Makrophagen und natürlichen Killerzellen des unspezifischen Immunsystems eine herausragende Rolle, indem sie infizierte Zellen direkt mit Hilfe zelltoxischer Substanzen attackieren und eliminieren.

Der lateinische Begriff „humores“ bedeutet wörtlich übersetzt „Körpersäfte“, die humorale Immunologie beschäftigt sich demnach mit der Bedeutung der Körperflüssigkeiten für das Immunsystem. Viele Bakterien vermehren sich im flüssigkeitsgefüllten Extrazellulärraum, der häufig zur Verbreitung dieser Erreger im Körper beiträgt. Die humorale Immunität ist für die Bekämpfung von Pathogenen, die Zerstörung extrazellulärer Erreger und die Neutralisierung

dort zirkulierender Substanzen, beispielsweise Toxine, zuständig. Sie stellt die durch Antikörper vermittelte spezifische Immunität dar.

2.3.1 Struktur und Funktion der Antikörper

Wesentliche Effektormechanismen der humoralen Immunität basieren auf der Wirkung von Antikörpern, die von terminal differenzierten B-Zellen, den Plasmazellen, sezerniert werden. Die Antikörper können auf verschiedene Art und Weise ihren Beitrag zur Immunabwehr leisten, meistens beruht ihre Wirkung letztendlich darin, dass durch sie Zellen und Moleküle des angeborenen Immunsystems zur Unterstützung herangezogen werden. Antikörper, die in den extrazellulären Flüssigkeiten vorliegen, binden an bakterielle Toxine. Dadurch können diese nicht mehr mit Körperzellen in Kontakt treten und pathologische Effekte hervorrufen, sie werden neutralisiert. Dasselbe kann mit Viruspartikeln oder Bakterien im Extrazellulärraum geschehen. Durch die „Markierung“ mit Antikörpern werden sie für Phagozyten (Makrophagen und neutrophile Granulozyten) als körperfremd erkennbar, man nennt diesen Vorgang Opsonisierung. Sie führt zur Aufnahme und zum Abbau des Antigens durch Phagozyten. Außerdem sind Antikörper in der Lage, das Komplementsystem zu aktivieren, wenn sie an der Oberfläche eines Bakteriums gebunden werden. Dieses System von Serumproteinen kann dann entweder direkt zur Lyse des Bakteriums führen oder wiederum seine Aufnahme und Zerstörung durch Phagozyten erleichtern.

Bei Antikörpern handelt es sich um Proteine von etwa 150 Kilodalton (kDa) Größe, die zur Familie der Immunglobuline (Ig) gehören. Die Mitglieder dieser Familie weisen Sequenzhomologien, Gemeinsamkeiten in der Organisation ihrer Gene sowie eine ähnliche dreidimensionale Struktur auf, sie sind an der Antigenerkennung und an Zell-Zell-Interaktionen im Zusammenhang mit dem Immunsystem oder auch anderen biologischen Systemen beteiligt. Monomere Antikörper haben in etwa die Form eines Y und bestehen aus zwei verschiedenen Polypeptidketten (1-3), der schweren Kette von etwa 50 kDa Größe und der leichten Kette, deren Größe 25 kDa beträgt. Ein monomerer Antikörper besteht aus jeweils zwei identischen schweren und zwei identischen leichten Ketten, die schweren Ketten sind untereinander sowie auch mit den leichten Ketten durch Disulfidbindungen verbunden. Man unterscheidet strukturell zwei Typen leichter Ketten (? und ?), funktionell sind zwischen ihnen keine Unterschiede bekannt. Das Verhältnis von ? zu ? variiert von Spezies zu Spezies, es beträgt beim Menschen 2:1, bei der Maus dagegen 2:1 (4). Jede Kette besteht aus mehreren, jeweils etwa 110 Aminosäuren langen, sich ähnelnden Sequenzen, den so genannten Immunglobulindomänen. Leichte Ketten besitzen zwei, die schwere Kette des IgG-Antikörpers besitzt dagegen vier solcher Domänen. Die aminoterminalen Domänen beider

Ketten variieren jeweils erheblich zwischen einzelnen Antikörpern, sie werden daher V-Regionen genannt und tragen zur Antigen-bindenden Stelle bei. Sie legen sich paarweise zusammen, so dass an den Spitzen der beiden „Arme“ des Y-förmigen Antikörpers zwei identische Bereiche entstehen, mit denen spezifisch Antigene gebunden werden können. Dadurch sind Antikörpermoleküle in der Lage, polymere Antigene zu vernetzen und sie stabiler zu binden. Die Sequenzvariabilität ist nicht gleichmäßig über die V-Regionen verteilt, sondern konzentriert sich auf drei so genannte hypervariable Bereiche (HV1-3), die auch als komplementaritätsbestimmende Regionen (complementary determining regions, CDRs) bezeichnet werden. Sie sind von vier weniger variablen Gerüstregionen (framework regions, FR1-4) umgeben. Eine konstante Region (C-Region) findet sich am carboxyterminalen Ende jeder leichten Kette. Schwere Ketten besitzen am Carboxyterminus mehrere C-Regionen, die zum Teil das „Bein“ des Y bilden, das als „fragment crystallizable“ (Fc-Fragment) bezeichnet wird. Dieser Teil des Antikörpers interagiert mit Effektormolekülen und Effektorzellen, das kann über spezielle Fc-Rezeptoren geschehen. Es gibt fünf Hauptklassen von schweren Ketten oder Isotypen, von denen einige mehrere Untertypen haben. Sie bestimmen die funktionelle Aktivität eines Antikörpermoleküls und werden mit μ , d, γ , a und e bezeichnet. Die fünf entsprechenden Immunglobulinklassen heißen Immunglobulin M (IgM), Immunglobulin D (IgD), Immunglobulin G (IgG), Immunglobulin A (IgA) und Immunglobulin E (IgE). Zusätzlich können bei den einzelnen Ig-Klassen noch Unterklassen existieren, die sich zwischen einzelnen Spezies unterscheiden. IgG beispielsweise hat beim Menschen die Unterklassen IgG1, 2, 3 und 4 und bei der Maus IgG1, 2a, 2b und 3. Beim Menschen existieren auch bei IgA zwei Unterklassen (IgA1 und IgA2). Die Immunglobulin-Isotypen haben jeweils spezielle Effektorfunktionen und wirken an unterschiedlichen Bereichen des Körpers: IgM bildet Pentamere, die aufgrund ihrer Größe hauptsächlich im Blut vorkommen. IgG ist der häufigste Isotyp im Blut und in extrazellulären Flüssigkeiten. IgA findet man dagegen auch in Sekreten, vor allem denen der Schleimdrüsen und des Atmungstraktes, es kann als Dimer vorliegen. IgE hat die Besonderheit, nur selten frei im Blut oder den Körperflüssigkeiten zu zirkulieren, denn es wird an Rezeptoren auf Mastzellen gebunden. Die Bindung des spezifischen Antigens durch diese Antikörper bewirkt, dass von den Mastzellen Mediatoren wie z.B. Histamin freigesetzt werden.

2.3.2 Aktivierung und Differenzierung von B-Zellen

Membrangebundenes Immunglobulin derselben Spezifität wie das sezernierte dient an der B-Zell-Oberfläche als Antigenrezeptor und wird als B-Zell-Rezeptor bezeichnet. Bei Bindung von Antigen sendet dieser ein Signal ins Zellinnere und schleust außerdem das Antigen in die

Zelle. Dort wird es in seine Peptidbestandteile abgebaut und kehrt dann an die Zelloberfläche zurück. Dabei ist es an Moleküle des Haupthistokompatibilitätskomplexes II (major histocompatibility complex II, MHC II) gebunden. Sowohl B- als auch T-Lymphozyten, deren Antigenrezeptoren strukturell verwandt sind, benötigen zur Aktivierung allerdings zusätzlich zur Bindung ihres spezifischen Antigens ein zweites Signal. Dies geschieht in den T-Zell-Bereichen der sekundären lymphatischen Organe, wohin in Peptidbestandteile zerlegte Antigene mit Hilfe von Makrophagen und/oder dendritischen Zellen transportiert werden, und in welche die B-Zellen zunächst gelangen, wenn sie in das Lymphgewebe eintreten. Bei den T-Zellen kann das Signal von Antigen-präsentierenden Zellen, also entweder dendritischen Zellen, Makrophagen oder B-Zellen geliefert werden. Die B-Zellen bekommen ihr zweites Signal durch aktivierte T-Helferzellen, die auf dasselbe Antigen reagieren. Man nennt dies gekoppelte Erkennung. Proteinantigene können bei Menschen und Tieren ohne T-Zellen keine B-Zell-Antwort mit Bildung protektiver Antikörper auslösen und sind daher typische thymusabhängige (thymus-dependent, TD-) Antigene. Die T-Helferzellen erkennen den Peptid:MHC-Klasse-II-Komplex auf den B-Zellen mit Hilfe des T-Zell-Rezeptors und vermögen darauf hin, unter anderem den B-Zell-stimulierenden CD40-Liganden (CD40L bzw. CD154) an der Oberfläche zu exprimieren. Außerdem sezernieren sie Zytokine wie zum Beispiel Interleukin (IL)-4, IL-5, IL-6 und IL-10. Dadurch werden die Proliferation der B-Zellen und ihre Differenzierung zu Plasmazellen gefördert. Die Differenzierung einer B-Zelle zur Plasmazelle geht mit morphologischen Veränderungen einher, in denen die wichtigste Aufgabe dieser Zellen, die Produktion von Antikörpern, von denen bis zu 10^4 Moleküle pro Sekunde sezerniert werden können (5, 6), zum Ausdruck kommt: Die Plasmazellen sind mit 10-15 μm größer als B-Zellen (10 μm) und haben eine ovoide Form. Sie besitzen viel Zytoplasma, worin das raue endoplasmatische Retikulum liegt, in dessen Zisternen sich Immunglobuline befinden. Um den Kern herum sieht man im Elektronenmikroskop einen markanten Golgi-Apparat, im Kern ist ein charakteristisches Muster peripherer Chromatinkondensation erkennbar. Auch die Expression von Oberflächenmarkern ändert sich, wenn eine B-Zelle sich zur Plasmazelle entwickelt, MHC-Klasse-II-Moleküle, Oberflächen-Immunglobuline und der murine B-Zell-Marker B220 (CD45R) werden deutlich schwächer exprimiert (7, 8). Plasmazellen tragen an ihrer Oberfläche das Proteoglykan Syndecan-1 (CD138) (9).

Nach primärer Stimulation mit einem TD-Antigen proliferieren die B-Zellen in Primärfoci an der Grenze zwischen B- und T-Zell-Zone und haben dann zwei Möglichkeiten der weiteren Entwicklung: manche wandern in die rote Milzpulpa bzw. zu den Marksträngen des

jeweiligen Lymphknotens, wo sie sich zu Antikörper-sezernierenden Zellen (ASC), die man auch als Plasmazellen bezeichnet, entwickeln, die zunächst IgM sezernieren. Andere B-Zellen wandern in einen primären Lymphfollikel, um sich weiter zu vermehren und schließlich ein Keimzentrum zu bilden. Dort durchlaufen sie eine Reihe von Prozessen, die zusammengefasst als Keimzentrumsreaktion bezeichnet werden. Durch die somatische Hypermutation verändern sich dabei die variable Region und damit die Affinität des B-Zell-Rezeptors. Im Verlauf der Affinitätsreifung werden dann B-Zellen mit hoher Bindungsaffinität für das spezifische Antigen selektiert, so dass nur diese überleben. Die positiv selektierten Zellen differenzieren später entweder zu Gedächtnis-B-Zellen oder zu Plasmazellen. Mit Hilfe von Zytokinen, die von THelferzellen stammen, können B-Zellen einen Isotypwechsel bei den von ihnen produzierten Antikörpern vollziehen, so dass IgA, IgG oder IgE sezerniert werden.

Die entstandenen Gedächtnis-B-Zellen sind in der Lage, bei erneutem Antigenkontakt schneller mit der Sezernierung von Antikörpern zu reagieren als naive B-Zellen in der Primärantwort. Auch ihre im Vergleich zur Primärantwort höhere Zahl und Affinität trägt dazu bei, dass insgesamt eine effektivere Immunantwort ablaufen kann.

Außer der T-Zell-Hilfe gibt es noch weitere Möglichkeiten für naive B-Zellen, ihr zweites Signal zu erhalten: Bei den so genannten thymusunabhängigen (thymus-independent, TI-) Antigenen kann dieses Signal von mikrobiellen Bestandteilen oder von nicht aus dem Thymus stammenden akzessorischen Zellen kommen. Die Antikörper, die bei solch einer Reaktion entstehen, sind größtenteils IgM von geringer Affinität, die sie produzierenden Plasmazellen sind kurzlebig und es entstehen keine Gedächtnis-B-Zellen.

2.3.3 Lokalisation und Lebensdauer von Plasmazellen

Bei einer primären Immunisierung mit einem nichtreplizierenden TD-Antigen (oder bei TI-Antigenen) wird die maximale Zahl an spezifischen Plasmazellen etwa nach einer Woche erreicht. Diese Zellen sind in der roten Milzpulpa zu finden und sie sterben nach wenigen Tagen in situ durch Apoptose, den programmierten Zelltod (2, 10, 11). Man bezeichnet sie als kurzlebige Plasmazellen. Immunglobuline besitzen eine Halbwertszeit von etwa 7 Tagen (2, 12), daher schlägt sich die kurze Lebensdauer dieser Plasmazellen in einem rasch sinkenden spezifischen Antikörpertiter im Serum nieder. Solche Plasmazellen zeigen keine Anzeichen für eine durchlaufene Keimzentrumsreaktion mit somatischer Hypermutation (13). In der frühen Primärantwort herrschen IgM-Antikörper vor, später läuft dann bei TD-Antigenen ein Isotypwechsel der B-Zellen ab und es kommt zur Sekretion von IgG, IgA oder IgE.

In einer Sekundärantwort sowie bei akuten viralen Infektionen verhält sich der Verlauf der Titer anders. Sie steigen in den ersten Tagen nach Kontakt mit dem Antigen rapide an und sinken dann zunächst auf ein etwas niedrigeres Niveau ab, auf dem sie über sehr lange Zeiträume nachweisbar bleiben (14). Gegen Antigene wie Diphtherie und Tetanus können beim Menschen über mehrere Jahrzehnte anhaltende Antikörpertiter nachgewiesen werden (15). Im Knochenmark immunisierter Mäuse lassen sich Antigen-spezifische Plasmazellen noch mindestens ein Jahr nach der Immunisierung detektieren (16). Die Zahl der Plasmazellen in den sekundären lymphatischen Organen dagegen fällt bereits nach einer Woche auf einen Wert, der nur wenig über dem vor der Immunisierung liegt (10). Parallel dazu lässt sich jedoch ein Anstieg der Zahl von Plasmazellen im Knochenmark beobachten (17).

Die Induktion der ASC erfolgt in den sekundären lymphatischen Organen, dieser Prozess vollzieht sich innerhalb weniger Tage nach einer Immunisierung: wurden bei Mäusen die Milzen kurz vor einer Immunisierung operativ entfernt, so war die Zahl an Antikörper-sezernierenden Zellen verschiedener Isotypen im Knochenmark an Tag 7 und 21 stark herabgesetzt (18). Ähnlich verhielt es sich, wenn eine solche Splenektomie am Tag 2 nach der Sekundärimmunisierung erfolgte. Bei einer Entfernung der Milz an Tag 4 war dagegen kein Unterschied in der Zahl von ASC im Knochenmark mehr feststellbar. Auch histologisch konnte man Plasmazellen, die nach einer Immunisierung spezifische Antikörper sezernierten, in den ersten Tagen nach einer Immunisierung in sekundären lymphatischen Organen nachweisen (10, 19, 20).

Man geht davon aus, dass die ASC bzw. ihre direkten Vorläufer in den ersten Tagen der Immunantwort von den sekundären lymphatischen Organen über das Blut (bzw. bei Entstehung in den Lymphknoten zunächst über die Lymphe) ins Knochenmark migrieren. Bei Schafen konnte 60 Stunden nach einer Sekundärimmunisierung in der efferenten Lymphe der drainierenden Lymphknoten ein starker Anstieg an Lymphoblasten festgestellt werden, mehr als die Hälfte dieser Zellen waren Antigen-spezifische ASC (21). Nach Impfungen ließ sich bei Menschen regelmäßig ein transients Anstieg spezifischer ASC im Blut detektieren, der seinen Höhepunkt etwa an Tag 6 erreichte (22-24). Mittels Autoradiographie konnte wenige Tage nach intravenöser Sekundärimmunisierung von Meerschweinchen ein Influx blastoider mononukleärer Zellen vom Blut ins Knochenmark sichtbar gemacht werden (25).

Wenn Keimzentrums-B-Zellen am Tag 3 nach Sekundärimmunisierung von Mäusen mit dem Proteinantigen Ovalbumin (OVA) in nicht-immunisierte Mäuse transferiert wurden, so ließen sich 2 Tage später im Knochenmark dieser Rezipienten OVA-spezifische ASC nachweisen. Dies war nicht der Fall, wenn Keimzentrums-B-Zellen am Tag 10 transferiert wurden (26).

Es konnte gezeigt werden, dass das murine Knochenmark den wesentlichen Ort der Langzeit-Antikörperproduktion nach einer viralen Infektion darstellt (27). Plasmazellen im Knochenmark von Menschen sind wahrscheinlich die Quelle lang anhaltender Antikörpertiter im Serum, wie sie nach Impfungen mit Lebendimpfstoffen gegen Masern, Polio und Gelbfieber sowie auch bei nichtreplizierenden Antigenen wie Tetanus- oder Diphtherietoxin festgestellt wurden (28, 29).

Nach einer Immunisierung mit OVA konnten Manz et al. im Knochenmark von Mäusen eine Lebensdauer der Plasmazellen von mindestens 120 Tagen nachweisen (30), eine Zeitspanne, die einen beträchtlichen Teil des Lebens dieser Tiere ausmacht. Über einen Zeitraum von 90 Tagen wurden in dieser Studie keine Zellteilungen der Plasmazellen beobachtet. Die Studien von Slifka et al. konnten die Existenz dieser so genannten langlebigen Plasmazellen bei Mäusen über den Zeitraum eines Jahres nach einer viralen Infektion bestätigen. Es wurde dabei experimentell ausgeschlossen, dass der Bestand der Plasmazellen im Knochenmark durch eine anhaltende Repopulation von Gedächtnis-B-Zellen kontinuierlich gespeist wird (6). Die Antikörper der im Knochenmark ansässigen Plasmazellen zeichnen sich durch eine hohe Affinität für ihr spezifisches Antigen aus. Die sie produzierenden Plasmazellen stammen hauptsächlich aus Keimzentrumsreaktionen, da sie größtenteils mutierte Ig V Regionen besitzen (31). Es existieren Hinweise darauf, dass langlebige Plasmazellen auch in der Milz von Mäusen zu finden sind, allerdings in wesentlich geringerer Zahl als im Knochenmark (32, 33).

Langlebige Plasmazellen leisten einen wichtigen Beitrag zur Aufrechterhaltung von Antikörpertitern, welche dem Organismus einen wirkungsvollen Schutz bei Reinfektion bieten. Allerdings müssen diese Zellen aber nicht den ausschließlichen Mechanismus hierzu bilden. Eine weitere Möglichkeit ist die kontinuierliche Stimulation des Immunsystems durch chronische Infektionen oder wiederholten Antigenkontakt, ohne dass es zu Symptomen einer Infektion kommt (34-37). Es konnte gezeigt werden, dass Antigen-Antikörperkomplexe an der Oberfläche von folliculären dendritischen Zellen (FDC) festgehalten werden (38). Die FDC können diese Antigene bei einem sinkenden spezifischen Antikörpertiter freisetzen. Dadurch erfolgt eine Aktivierung von Gedächtnis-B-Zellen, die daraufhin zu Plasmazellen ausdifferenzieren können (39-41). Auch die Kreuzreaktivität zu Umwelt- oder auch Autoantigenen, die Gedächtnis-B-Zellen stimuliert, wird als eine Möglichkeit zur Stabilisierung lange anhaltender Titer diskutiert (42, 43). Die polyklonale Aktivierung von Gedächtnis-B-Zellen stellt einen weiteren möglichen Mechanismus dar (44). Diesen Theorien ist gemeinsam, dass sie eine mehr oder weniger kontinuierliche Stimulation durch Antigen

voraussetzen. Für langlebige Plasmazellen konnte jedoch gezeigt werden, dass sie diese nicht benötigen (32).

Neben dem Knochenmark, das im gesunden Organismus als physiologisches Reservoir von Plasmazellen fungiert, kann eine Akkumulation von Plasmazellen auch in anderen Geweben vorkommen. Obgleich es sich dabei um unterschiedlichste Arten von Gewebe handelt, ist allen jedoch gemeinsam, dass in ihnen chronische Entzündungsprozesse ablaufen. So wurden Plasmazellen in Gelenken von Patienten mit Rheumatoider Arthritis (45) und in den Nieren von weiblichen New Zealand Black x New Zealand White F1-Mäusen (NZB/W-Mäusen) nachgewiesen (46). Diese Tiere entwickeln eine dem humanen Systemischen Lupus Erythematoses (SLE) ähnliche Autoimmunkrankheit, die unter anderem eine chronische Immunkomplex-vermittelte Glomerulonephritis verursacht. In diesen Nieren waren keine Keimzentren detektierbar, was darauf hindeutet, dass die Plasmazellen dorthin eingewandert sein mussten, und die Zahl der in den Nieren ansässigen ASC war vergleichbar mit der im Knochenmark. Es wurden nach einer Immunisierung mit OVA dort auch Zellen gefunden, die Antikörper gegen dieses Antigen sezernierten, die Plasmazellen akkumulierten demnach unabhängig von ihrer Spezifität im entzündeten Gewebe. Ähnliches berichten Mallison et al., die Kaninchen immunisierten, bei denen zu diesem Zeitpunkt eine chronische Gingivitis bestand. Eine Woche nach der Immunisierung waren histologisch im entzündeten Zahnfleisch dieser Tiere Hunderte von Plasmazellen nachweisbar (47). Die von diesen ASC produzierten Antikörper waren zum großen Teil spezifisch für das injizierte Antigen, obwohl sich die Injektionsstelle an den Hinterläufen und somit weit von der Maulhöhle entfernt befand (47). Ein Teil der ASC war 9 Monate später noch vorhanden.

In den letzten Jahren wurde von verschiedenen Arbeitsgruppen gezeigt, dass die Lebensdauer der Plasmazellen eng mit ihrer Lokalisation im Gewebe verknüpft ist (33, 48, 49). Sowohl lösliche Faktoren, die von den im Gewebe ansässigen Zellen produziert werden als auch Zell-Zell-Kontakte und die Verankerung der Plasmazellen an Komponenten der extrazellulären Matrix scheinen dabei eine Rolle zu spielen.

2.4 Chemotaxis und Migration

2.4.1 Chemokine und ihre Rezeptoren

Bei der Positionierung von Zellen im Organismus übernehmen chemotaktisch aktive Zytokine, so genannte Chemokine, wichtige Aufgaben. Es handelt sich dabei um strukturell verwandte, kleinemolekulare Zytokine (zwischen 8 und 17 kDa Größe), die wahrscheinlich durch Duplikation und Modifikation von Vorläufergenen entstanden sind. Sie können Zellen

dazu veranlassen, gerichtet entlang eines Konzentrationsgradienten zu wandern. Zwar können auch andere Moleküle wie beispielsweise gewisse Lipide oder Nukleotide im Organismus chemotaktische Funktionen erfüllen. Chemokine wirken aber viel spezifischer auf bestimmte Zielzellen und weisen eine stabilere molekulare Struktur auf als diese Stoffe (50). Die Chemokine mobilisieren im Falle einer Infektion Effektorzellen sowohl der angeborenen als auch der adaptiven Immunantwort und leiten sie zu den Infektionsherden und in lymphatische Gewebe. Daher können sie von vielen verschiedenen Zelltypen freigesetzt werden (51). Darüber hinaus spielen sie in der Organentwicklung, Angiogenese, Angiostase, bei der homöostatischen Leukozytenrezirkulation und Immunregulation eine Rolle. Man unterteilt sie funktionell in homöostatische (konstitutiv exprimierte) und inflammatorische (induzierbare) Chemokine. Allerdings konnte für homöostatische Chemokine wie beispielsweise CXCL12 gezeigt werden, dass sie auch an entzündlichen Prozessen beteiligt sind und ihre Expression reguliert und damit induzierbar wird (52). Strukturell ist eine Einteilung aufgrund der im aminoterminalen Bereich liegenden Cysteinreste möglich: die CC-Chemokine, die beim Menschen größtenteils in einem Bereich von Chromosom 4 codiert werden, enthalten zwei nebeneinander liegende Cysteinreste. Bei den CXC-Chemokinen, deren Gene beim Menschen größtenteils nahe beieinander auf Chromosom 17 liegen, befindet sich zwischen den beiden Cysteinen eine weitere Aminosäure. Diese Gruppe lässt sich noch weiter danach unterteilen, ob vor der ersten dieser beiden konstanten Cysteine ein bestimmtes Tripeptidstrukturmotiv, das Glutaminsäure-Leucin-Arginin (ELR)-Motiv, vorhanden ist. Chemokine, die neutrophile Granulozyten anlocken, enthalten dieses Motiv und wirken angiogen (53). Zwei C-Chemokine mit nur einem Cystein an der entsprechenden Position sowie das Chemokin Fractalkin, bei dem 3 Aminosäuren zwischen den Cysteinresten liegen (also CX₃C), werden an anderen Stellen im Genom kodiert (51). Charakteristisch für die Interaktion von Chemokinrezeptoren und ihren Liganden ist ein hohes Maß an Redundanz und Bindungs-Promiskuität: häufig existieren mehrere Liganden, die hoch affin an einen Rezeptor binden und umgekehrt kann ein Chemokin mehrere Rezeptoren besitzen.

Die Chemokinrezeptoren sind Guanosin-Nukleotid-Protein-gekoppelte Rezeptoren (G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, GPCR), die zunächst auf Leukozyten entdeckt wurden, deren Vorkommen inzwischen aber auch auf ekto- und endodermalen, neuroektodermalen und mesenchymalen Zellen nachgewiesen wurde (50). Sie bestehen aus sieben membranüberspannenden, hydrophoben Domänen, deren Verbindung durch jeweils drei intra- und extrazelluläre Schleifen erfolgt. Die Chemokine werden über die extrazelluläre aminoterminalen Region gebunden, während die potentiell phosphorylierte carboxyterminale

Region mit dem G-Protein verbunden sein kann. Bei einem G-Protein handelt es sich um ein Heterotrimer, das aus den drei Untereinheiten G_α , G_β und G_γ besteht. Im Ruhezustand ist das G-Protein inaktiv und nicht mit dem Rezeptor assoziiert. Es besitzt ein Molekül Guanosin-Diphosphat (GDP), das an die α -Untereinheit gebunden ist. Bei Bindung des Chemokin-Liganden ermöglicht eine Konformationsänderung des Chemokinrezeptors die Interaktion mit einem G-Protein (50, 54, 55). Daraufhin erfolgt ein Austausch von GDP durch Guanosin-Triphosphat (GTP), der das G-Protein in G_α sowie G_β/γ -Untereinheiten dissoziieren lässt. Die GTP_α -Untereinheit aktiviert daraufhin Enzyme wie die Phospholipase C und die Phosphoinositol-3-kinase, welche Membran-Phospholipide in Inosit-1, 4, 5-triphosphat (IP_3) und Diacylglycerin (DAG) spalten. IP_3 setzt aus dem endoplasmatischen Retikulum Kalziumionen (Ca^{2+}) frei, DAG bleibt dagegen in der Zellmembran und aktiviert Isoformen der Proteinkinase C (PKC) (50). Diese setzen zusammen mit den Ca^{2+} -Ionen die Kette der Reaktionen fort. Es folgt eine Kaskade von Phosphorylierungen, die wiederum eine Reihe von Kinasen und kleinen GTPasen (z.B. Ras und Rho) aktivieren, welche dann direkt auf Zellfunktionen wie Adhäsion und Chemotaxis wirken (50). Nach Bindung ihrer Liganden werden die Chemokinrezeptoren meist zunächst internalisiert und können dann degradiert oder rezykliert werden. Daraus resultiert, dass eine Zelle temporär nicht mehr auf eine weitere Stimulation durch das betreffende Chemokin reagiert, da sie refraktär ist. Als regulatorische Elemente für Chemokinrezeptoren sind so genannte Arrestine beschrieben. Sie können an der C-terminalen Region an bestimmte, zuvor durch GPCR-Kinasen phosphorylierte Zielbereiche binden und so zu einer Entkopplung des Rezeptors vom G-Protein bzw. Desensibilisierung führen (56-58). Bestimmte GTPasen, die so genannten RGS-Proteine (regulators of G-protein signaling) beeinflussen ebenfalls die Signaltransduktion der G-Proteine (59). Tabelle 1 enthält eine Übersicht über die beim Menschen und bei der Maus bislang bekannten Chemokine. Die angegebene Nomenklatur wurde von der International Union of Immunological Societies, Subcommittee on Chemokine Nomenclature, anerkannt (51, 60) und aufgrund neu entdeckter Chemokine inzwischen mehrfach erweitert (61-63). Bei den Rezeptoren handelt es sich um die Hauptrezeptoren, einige Liganden können noch weitere Nebenrezeptoren binden. Bei mit „?“ gekennzeichneten Liganden ist unklar, ob das Maushomolog dem humanen gelisteten Liganden entspricht. Wegen der vielen verschiedenen Bezeichnungen für ein Molekül erfüllen die genannten Namen keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

Tabelle 1: Übersicht über die bislang bekannten humanen und murinen Chemokine und ihre Rezeptoren.

CXC-Rezeptorfamilie (α -Chemokine)

Systematischer Name	Humaner Ligand	Muriner Ligand	Rezeptoren
CXCL1	GRO α /MSA- α	GRO/KC?	CXCR1,CXCR2
CXCL2	GRO β /MSA- β	GRO/KC?	CXCR2
CXCL3	GRO γ /MSA- γ	GRO/KC?	CXCR2
CXCL4	PF4	PF4	unbekannt
CXCL5	ENA-78	LIX?	unbekannt
CXCL6	GCP-2	CK α -3	CXCR1, CXCR2
CXCL7	NAP-2	unbekannt	CXCR2
CXCL8	IL-8	unbekannt	CXCR1, CXCR2
CXCL9	MIG	MIG	CXCR3
CXCL10	IP-10	IP-10	CXCR3
CXCL11	I-TAC	I-TAC	CXCR3
CXCL12	SDF-1 α , SDF-1 β	SDF-1	CXCR4
CXCL13	BLC/BCA-1	BLC/BCA-1	CXCR5
CXCL14	BRAK/Bolekine	BRAK	CXCR6
CXCL15	unbekannt	Lungkine	unbekannt
CXCL16	SEXCKine	CXCL16	CXCR6

Fortsetzung der Tabelle siehe nächste Seite

CC-Rezeptorfamilie (β -Chemokine)

Systematischer Name	Humaner Ligand	Muriner Ligand	Rezeptoren
CCL1	I-309	TCA-3	CCR8
CCL2	MCP-1/MCAF	JE?	CCR2
CCL3	MIP-1 α /LD78 α	MIP-1 α	CCR1, CCR5
CCL4	MIP-1 β	MIP-1 β	CCR5
CCL5	RANTES	RANTES	CCR1,CCR3,CCR5
CCL6	unbekannt	C10	unbekannt
CCL7	MCP-3	MARC	CCR1,CCR2,CCR3
CCL8	MCP-2	MCP-2 ?	CCR3
CCL9	unbekannt	MRP-2/MIP-1 γ	unbekannt
CCL10 (reserviert)			
CCL11	Eotaxin	Eotaxin	CCR3
CCL12	unbekannt	MCP-5	CCR2
CCL13	MCP-4	unbekannt	CCR2, CCR3
CCL14	HCC-1	unbekannt	CCR1
CCL15	HCC-2/MIP-1 δ	unbekannt	CCR1, CCR3
CCL16	HCC-4, LEC	LCC-1	CCR1
CCL17	TARC	TARC, ABCD-2	CCR4
CCL18	DC-CK1/PARC	unbekannt	unbekannt
CCL19	MIP-3 β /ELC	MIP-3 β /ELC	CCR7
CCL20	MIP-3 α /LARC	MIP-3 α /LARC	CCR6
CCL21	6Ckine/SLC	6Ckine/SLC	CCR7
CCL22	MDC/STCP-1	ABCD-1	CCR4
CCL23	MPIF-1	unbekannt	CCR1
CCL24	MPIF-2/Eotaxin-2	unbekannt	CCR3
CCL25	TECK	TECK	CCR9
CCL26	Eotaxin-3	unbekannt	CCR3
CCL27	CTACK-ILC	ALP/CTACK/ILC	CCR10
CCL28	MEC	MEC	CCR10

CX₃C-Rezeptorfamilie

Systematischer Name	Humaner Ligand	Muriner Ligand	Rezeptoren
CX ₃ CL1	Fractalkine	Neurotactin	CX ₃ CR1

C-Rezeptorfamilie

Systematischer Name	Humaner Ligand	Muriner Ligand	Rezeptoren
XCL1	ATAC/Lymphotactin	ATAC/Lymphotactin	XCR1
XCL2	SCM-1 β	unbekannt	XCR1

2.4.2 Das Mehrschrittmodell der Leukozytenextravasation

Um eingedrungene Antigene im Körper aufspüren zu können, ist eine ständige Überwachung durch patrouillierende Leukozyten eine wichtige Voraussetzung. Hierfür rezirkulieren diese permanent zwischen Blut und lymphatischen Geweben, die sie durch Lymphgefäße wieder verlassen, um über den Ductus thoracicus in den Blutstrom zurückzukehren (4). Sowohl für die Rekrutierung von Lymphozyten in Entzündungsgewebe als auch zur Rezirkulation ist die Extravasation dieser Zellen durch das Endothel nötig (64). Dieser Prozess läuft in mehreren, aufeinander folgenden Teilschritten ab, die Adhäsions- und Aktivierungskomponenten enthalten und im so genannten Mehrschrittmodell der Transmigration zusammengefasst sind. Wie aus Abbildung (Abb.) 1 ersichtlich ist, spielen Chemokine dabei an mehreren Punkten eine Rolle. Um aus dem Gefäß austreten zu können, ist zunächst die Verlangsamung der Fließgeschwindigkeit und Verlagerung einer Zelle vom Zentrum des Gefäßlumens in die Nähe der Gefäßwand nötig. Hierzu trägt der veränderbare Querschnitt der Gefäße bei, der sich z.B. im Falle einer Entzündung erweitern kann. Die Zellen nehmen dann losen Kontakt mit dem Endothel auf. Diesen Vorgang bezeichnet man als „Rolling“, er wird über Selektine und ihren Liganden vermittelt (64). Chemokine, die entweder direkt durch das Endothel oder durch darunter liegendes Gewebe produziert werden, können auf die luminale Seite der Endothelzellen transportiert und von Proteoglykanen gebunden werden. Die dort locker gebundenen Lymphozyten haben beim Rolling Gelegenheit, mittels entsprechender Rezeptoren an diese Chemokine zu binden. Dies bewirkt eine Konformationsänderung und Erhöhung der Avidität der Integrine auf der Zelloberfläche. Sie werden dadurch fähig, mit Mitgliedern der Immunglobulinfamilie wie zum Beispiel dem Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) oder Intercellular Cell Adhesion Molecule 1,2 (ICAM-1,2) auf dem

Endothel zu interagieren. Es resultiert eine Arrestierung und feste Adhäsion, so dass die Zellen durch die Endothelschicht transmigrieren können. Wenn sie schließlich im Gewebe angekommen sind, werden sie durch den dort herrschenden Chemokingradienten zum Ort der höchsten Chemokinkonzentration angelockt.

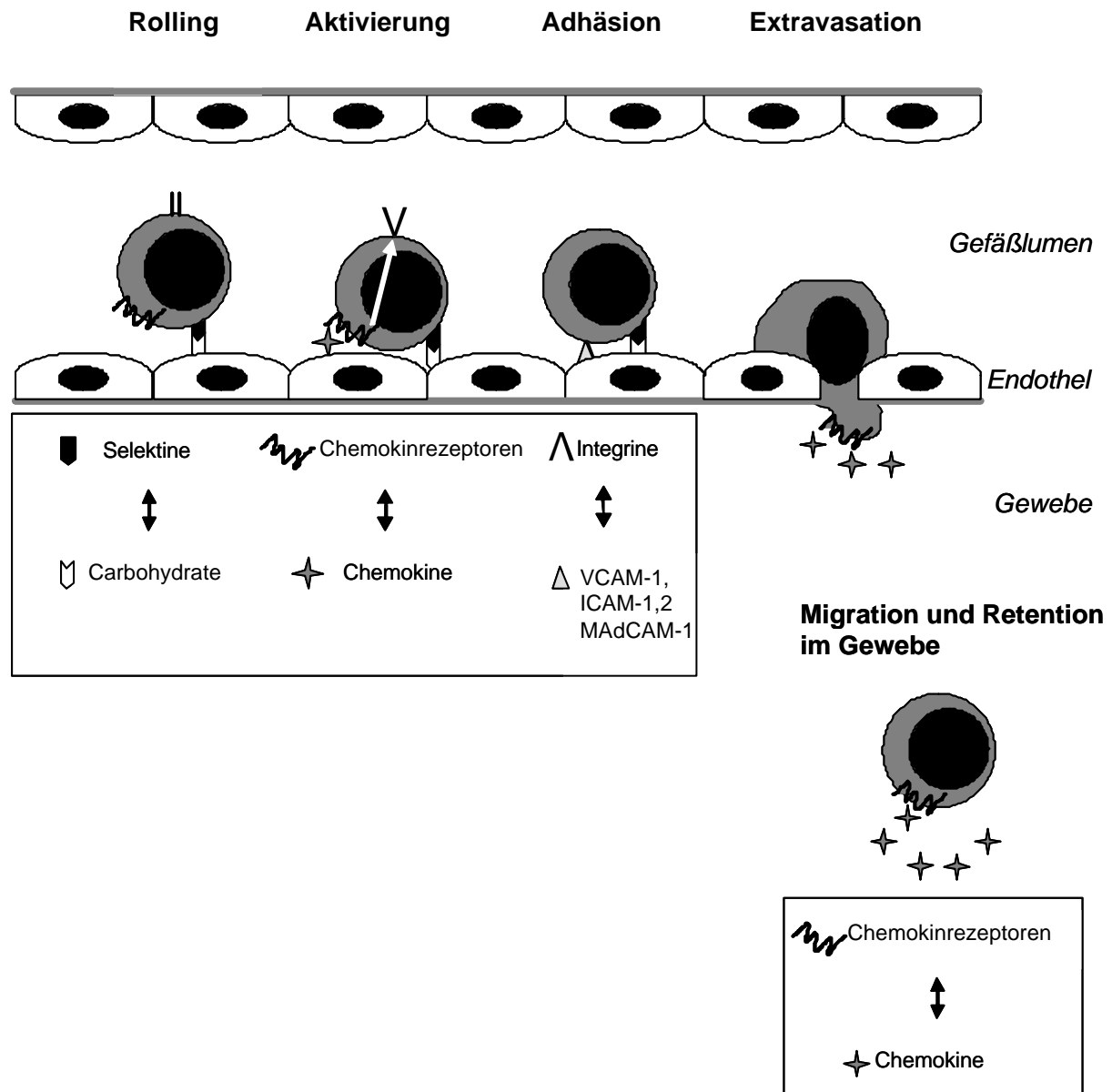


Abbildung 1: Das Mehrschrittmodell der Transmigration (nach (64), verändert).
Einzelheiten sind im Text erläutert.

2.4.3 Funktion der Chemokine bei der Lokalisation und Homöostase von Lymphozyten in sekundären lymphatischen Organen

Während einer Immunantwort sind Chemokine sowohl beim Eintritt der rezirkulierenden Lymphozyten in die peripheren lymphatischen Organe als auch bei der Positionierung der

unterschiedlichen Zellarten beteiligt, so dass dort eine optimale Interaktion zwischen diesen erfolgen kann (65). Naive T-Zellen besitzen den Chemokinrezeptor CCR7, der es ihnen ermöglicht, über die postkapillären Venolen mit hohem Endothel (high endothelial venules, HEV) in die Lymphknoten zu gelangen, nachdem ein durch L-Selektin (CD62L) vermitteltes Rolling erfolgt ist. Die Liganden für CCR7, nämlich CCL19 (ELC) und CCL21 (SLC), konnten auf der luminalen Seite von HEVs nachgewiesen werden (66, 67). Sie sind in der Lage, eine Integrin-vermittelte Adhäsion von T-Lymphozyten zu induzieren (68).

Gedächtnis-T-Zellen und DCs gelangen vorwiegend über die afferente Lymphe in die Lymphknoten, wobei hier CCR7-CCL21-Interaktionen beteiligt sind (65, 69). Die CCR7-Liganden CCL19 und CCL21 werden auch von Stromazellen in der T-Zell-Zone gebildet und tragen zur Kolokalisation und Interaktion von T-Zellen und DCs bei. Zum Teil können DCs auch selbst CCL19 produzieren (70, 71).

Beim Eintritt der B-Zellen in die Lymphknoten spielt dagegen CXCR5 eine maßgebliche Rolle, während CCR7 und CXCR4 redundante Funktionen besitzen (72).

In die Milz gelangen die Zellen direkt über die Zentralarterien, wobei der Zugang zur weißen Pulpa auch hier von der Expression spezifischer Chemokinrezeptoren abhängt. Nachdem die Zellen in ihren Zielorganen angekommen sind, wirken Chemokine bei der Bildung von Kompartimenten innerhalb des lymphatischen Gewebes mit: in der Positionierung der B-Zellen in den Follikeln nimmt CXCR5, der auf nahezu allen B-Zellen vorhanden ist, eine herausragende Stellung ein. Sein Ligand CXCL13 (B-Lymphocyte Chemoattractant, BLC) wird im Follikel von Stromazellen (73) und HEV (72) gebildet. Auch eine kleine Subpopulation von CD4⁺ T-Zellen trägt CXCR5 auf der Oberfläche. Dadurch wird diesen Zellen ermöglicht, in die Follikel einzuwandern und als T-Helferzellen zu fungieren (74). Ihre Fähigkeit zur B-Zell-Hilfe wurde *in vitro* nachgewiesen (75), man bezeichnet sie als Follikuläre B-Helfer-T-Zellen (T_{FH}) (74, 76). Sie sind positiv für die Oberflächenmoleküle CD40-Ligand und OX40 (75), sowie Inducible Costimulator Protein (ICOS) (74, 76). Diese Moleküle beeinflussen die weitere Entwicklung der B-Zellen. Eine B-Zelle kann an diesem Punkt entweder in eine Plasmazelle differenzieren oder ein Keimzentrum bilden (77). OX40 scheint zusammen mit den Zytokinen IL3, IL6 und IL10 eine Differenzierung zu Plasmazellen zu fördern. CD40-Ligand und IL4 beeinflussen dagegen die Entwicklung von ruhenden B-Zellen zu Keimzentrums-B-Zellen bzw. von diesen zu Gedächtnis-B-Zellen (78). ICOS besitzt anscheinend die Fähigkeit, den B-Zellen Hilfe zur Antikörperproduktion zu geben (79-81).

Nach der Aktivierung über ihren BCR in den Follikeln exprimieren die B-Lymphozyten vermehrt CCR7 auf ihrer Oberfläche, während die CXCR5-Expression unverändert bleibt. Daraus resultiert, dass sie in höherem Maße auf CCR7-Liganden ansprechen, was ihnen ermöglicht, die Follikel zu verlassen und zum Rand der T-Zell-Zone zu wandern (82). Hier haben sie Gelegenheit, mit T-Helfer-Zellen zu interagieren, sehr wahrscheinlich produzieren sie zu diesem Zweck Chemokine wie CCL3 und CCL22, die Gedächtnis-T-Zellen anlocken (65).

2.4.4 Rolle von Chemokinen im Verlauf von Entzündungen

Die Expression der so genannten inflammatorischen Chemokine ist durch entzündliche Vorgänge induzierbar. Sie sind dafür zuständig, Effektorzellen des Immunsystems in entzündete Gewebe zu rekrutieren und können daher von vielen verschiedenen Zellarten gebildet werden. Die inflammatorischen CXC-Chemokine mit ELR-Motiv wirken bevorzugt chemotaktisch auf neutrophile Granulozyten, Monozyten, Mastzellen, einige CD8⁺ T-Zellen und NK-Zellen (83). Im Gegensatz dazu haben die Liganden von CXCR3, die dieses Tripeptidmotiv nicht besitzen, einen chemotaktischen Effekt auf aktivierte T-Lymphozyten (84) und B-Zellen (85). Diese Chemokine besitzen neben dem gemeinsamen Rezeptor CXCR3 alle die Eigenschaft, dass ihre Expression in Monozyten durch das proinflammatorische Zytokin Gamma-Interferon (IFN- γ) induzierbar ist (86, 87).

Die CC-Chemokine locken T-Zellen und Monozyten an, einige spielen auch eine Rolle bei allergischen Reaktionen, indem sie auf eosinophile und basophile Granulozyten sowie auf Mastzellen wirken (88).

Im Verlauf von Entzündungen sind die Effekte von inflammatorischen Chemokinen an vielen Beispielen belegt. Da in einem Teil der durchgeführten Versuche die Organe von autoimmunen Mäusen verwendet wurden, soll die Rolle von Chemokinen bei diesen chronisch entzündlichen Erkrankungen kurz näher erläutert werden. Die klinische Manifestation stellt hierbei die Folge einer starken Immunantwort gegen ein Selbst-Antigen dar. Dabei werden Lymphozyten durch Autoantigene und Antigen-präsentierende Zellen (APC) in den betroffenen Organen aktiviert. Dies führt zu einer Bildung von inflammatorischen Zytokinen und Chemokinen, die wiederum weitere Leukozyten rekrutieren und so das Entstehen eines chronischen Prozesses fördern.

Ein Beispiel für eine solche Erkrankung stellt der Systemische Lupus Erythematoses (SLE) dar. Wie der Name impliziert, ist diese Krankheit durch ein breites Spektrum von Symptomen gekennzeichnet und kann Beschwerden des muskuloskeletalen Systems (Arthritis, Myalgie, Tendosynovitis), des Herz-Kreislauf-Apparates, der Lunge und des zentralen Nervensystems

umfassen. Dermatologische Manifestationen sind häufig, ebenso wie eine Beteiligung der Nieren. Eine bedeutende Rolle in der Pathogenese nehmen Ablagerungen von Immunkomplexen in den genannten Organsystemen ein. Sie bestehen unter anderem aus Autoantikörpern, die gegen Bestandteile des Zellkernes gerichtet sind. In den Nieren führen sie zu einer chronischen, lebensbedrohenden Glomerulonephritis (89). Nierenversagen stellt die häufigste Todesursache bei Lupuspatienten dar. Es existieren eine Reihe verschiedener Mausmodelle für diese Erkrankung, so zum Beispiel die Stämme (NZBxNZW)F1 (NZB/W) sowie MRL/MpJ Fas^{lpr/lpr} (MRL/lpr). Bei letzteren wurde gezeigt, dass inflammatorische Chemokine wie CXCL10, CCL2, CCL4, CCL5 vor Einsetzen der klinischen Symptomatik verstärkt in der Niere exprimiert wurden. Beim Menschen gibt es

Hinweise an einer Beteiligung von CXCL10 am Krankheitsverlauf von SLE (90).

Bei der Rheumatoiden Arthritis (RA) wurden erhöhte Spiegel von CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CXCL5, CXCL8, CXCL9 und CXCL10 in der Synovia nachgewiesen (91). Es wird angenommen, dass die angiogen wirkenden Chemokine CXCL5 und CXCL8 an der entzündlichen Neuvaskularisation der Gelenke beteiligt sind und so die Bildung des wuchernden Pannusgewebes fördern. Über die Rolle von CXCR4 bei RA existieren kontroverse Berichte. Aus betroffenen Gelenken isolierte T-Zellen exprimieren diesen Rezeptor zwar vermehrt und sein Ligand CXCL12 wird dort verstärkt von Synovialzellen gebildet (52), allerdings ist nicht direkt bewiesen, ob dieses homöostatische Chemokin an der Rekrutierung von Zellen in Entzündungsgebiete beteiligt ist (91).

Bei der Multiplen Sklerose (MS) und dem Tiermodell für diese Autoimmunerkrankung, der Experimentellen Autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE), konnten erhöhte Spiegel von CXCL10 in der Zerebrospinalflüssigkeit nachgewiesen werden, was mit der großen Bedeutung einhergeht, die IFN- γ in der Krankheitsprogression besitzt. Auch CCR1 und CCR2 scheinen wichtig für die Entwicklung von EAE zu sein, da sie sich nicht bei Mäusen auslösen lässt, die defizient für einen der beiden Rezeptoren sind (91).

Auch bei Allergien und Asthma wurden wichtige Funktionen für Chemokine bewiesen (92). Einige Vertreter der Chemokinfamilie besitzen antimikrobielle Eigenschaften (93). Es konnte auch gezeigt werden, dass Chemokine an der Metastasierung von Tumoren beteiligt sind (94-96). Eine besondere Bedeutung haben Chemokinrezeptoren schließlich dadurch erlangt, dass eine Reihe von Lentiviren aus der Familie der Retroviridae sie als Korezeptoren benutzen, um eine Zelle infizieren zu können, so zum Beispiel das Humane, das Feline und das Simian Immundefizienz-Virus (HIV, FIV und SIV) (97).

Die selektive Blockade der Rekrutierung von Leukozyten zu Entzündungsorten durch Hemmung der Bindungsfähigkeit von Chemokinrezeptoren hat sich in einigen Erkrankungsmodellen als effektives Therapeutikum herausgestellt (98). Eine Vielzahl von Antagonisten für verschiedene Chemokinrezeptoren befindet sich momentan in der Entwicklung, zum Teil sind diese auch schon in Phase I-Versuche des Zulassungsverfahrens für Arzneimittel eingegangen (98). Umgekehrt sind aber auch Therapieansätze denkbar, bei denen die gezielte Applikation von Chemokinen bestimmte Zellen in ein Krankheitsareal rekrutiert. Zum Beispiel könnten so suppressiv wirkende T-Zellen in den Bereich einer überschießenden Entzündungsreaktion gebracht werden oder zytotoxische T-Zell-Subpopulationen zur Tumorbekämpfung eingesetzt werden (95).

2.5 Plasmazell-vermittelte Immunität in der Veterinärmedizin

Bereits 1898 berichteten Pfeiffer und Marx, dass Knochenmarksextrakte von Kaninchen, die mit *Vibrio cholerae* infiziert worden waren, spezifische Antikörper enthielten (99). Ähnliche Ergebnisse wurden fast zeitgleich von Deutsch veröffentlicht, der nach einer Immunisierung von Meerschweinchen mit Typhus-Vakzine im Knochenmark Antikörper gegen Typhus nachwies (100). Thorbecke und Keunig lieferten dann 1953 den Beweis, dass Bestandteile des Knochenmarks nach einer Immunisierung fähig waren, Antikörper zu produzieren (101). Unter anderem konnte die Bildung von Antikörpern im Knochenmark bei Fröschen (102), Hühnern (103), Mäusen (104), Ratten (105), Molchen (106) Meerschweinchen (107), Kaninchen (17) und beim Menschen (28) nachgewiesen werden. Diese Beispiele zeigen, dass es sich bei der Akkumulation von Plasmazellen im Knochenmark um ein allgemeines Phänomen handelt, welches nicht auf den Menschen bzw. die Maus beschränkt ist. Sehr wahrscheinlich lässt sich daher das Modell der langlebigen Plasmazellen zur Aufrechterhaltung spezifischer Antikörpertiter über lange Zeiträume auf andere Spezies übertragen.

Immunisierungen gegen verschiedene Krankheitserreger spielen eine wichtige Rolle in der praktischen Veterinärmedizin. Man unterscheidet die passive Immunisierung, bei der Immunseren transferiert werden, von Vakzinierungen. Bei solchen aktiven Immunisierungen werden Tieren Antigene verabreicht, die von infektiösen Agenzien stammen. Dadurch wird die Bildung protektiver Antikörper gegen diese Krankheitserreger angeregt, so dass die Individuen vor einer Infektion geschützt sind. Neben der Immunisierung einzelner Tiere ist vor allem in der modernen Nutztierhaltung die Impfung von ganzen Populationen von

Bedeutung. Diese so genannte Herdenimmunität verhindert, dass es in diesen Beständen zur raschen Ausbreitung von infektiösen Erkrankungen kommen kann (108).

Eine Vakzine sollte optimalerweise nach der Impfung eine lange anhaltende, starke Immunität hervorrufen. Bei der Verabreichung von lebenden Organismen ist dies im Allgemeinen der Fall, allerdings besteht die Gefahr von Nebenwirkungen. Diese werden bei einer Immunisierung mit aufgereinigten Antigenen vermieden, allerdings ist der Impfschutz hier häufig nur über kürzere Zeiträume gewährleistet (108). Bei der Entwicklung von Vakzinierungsstrategien liegt es nahe, die Bedingungen für langlebige Plasmazellen, den Produzenten von Antikörpern, zu optimieren. Die herausragende Bedeutung protektiver Antikörper für die Langzeit-Immunität spiegelt sich darin wider, dass die Messung der Serumtiter spezifischer Antikörper zur Beurteilung des Impfstatus eines Individuums herangezogen wird (109).

Neben dem schützenden Effekt, den Plasmazellen durch die Produktion von Antikörpern besitzen, sind in der Tiermedizin Autoimmunerkrankungen bekannt, bei denen Antikörper eine schädigende Wirkung auf den Organismus ausüben. In der folgenden Tabelle 2 sind einige Krankheiten der Haustiere aufgeführt, bei denen Autoantikörper maßgeblich an der Pathogenese beteiligt sind (108, 110).

Bei Hunden und Katzen kommen - wie auch beim Menschen - maligne Neoplasien von Knochenmarksplasmazellen vor. Sie werden als Multiple Myelome (111) bezeichnet. Noch ist unbekannt, wie es zu solch einer tumorösen Entartung von Plasmazellen kommt, es gibt aber Hinweise darauf, dass extrinsische Faktoren das Überleben dieser Zellen fördern (112). Ein besseres Verständnis der Biologie von Plasmazellen kann auch dazu beitragen, neue Ansätze in der Therapie dieser Tumorerkrankungen zu finden.

Tabelle 2: Übersicht über die häufigsten Antikörper-vermittelten Autoimmunerkrankungen der Haustiere (nach (110) und (108), verändert)

Systemische Autoimmunerkrankungen

Organsysteme	Name	Autoantikörper-Spezifität	Spezies
Niere, Gelenke, Haut, Blut	Systemischer Lupus Erythematoses	Bestandteile des Zellkerns	Hund, Pferd, Katze
Auge, Verdauungs- system	Sjögrens Syndrom	Epithelzellen der Nickhaut, Tränen- und Speicheldrüsen, Bestandteile des Zellkerns, Rheumafaktoren	Hund

Organspezifische Autoimmunerkrankungen

Organsystem	Name	Autoantikörper-Spezifität	Spezies
Schilddrüse	Autoimmune Thyreoiditis	Thyroglobulin, Thyroxin, Triiodthyronin	Hund, Huhn
Nervensystem	Polyneuritis	Myelin	Pferd, Hund
Auge	Equine rezidivierende Uveitis	Cornea, Kreuzreaktivität zu <i>L. interrogans</i> -Serovaren	Pferd
Haut	Pemphigus	Desmosomen der Keratinozyten	Pferd, Hund, Katze, Ziege
	Pemphigoid	Basalmembran	Hund
	Allopezia areata	Haarfollikel	Pferd, Rind, Hund, Katze, Primaten
Niere	Autoimmune Nephritis	Glomeruläre Basalmembran	Pferd
Blut	Autoimmune hämolytische Anämie	Antigene auf Erythrozyten	Hund, Katze
	Autoimmune Thrombozytopenie	Antigene auf Thrombozyten und Megakaryozyten	Hund, Pferd
Muskulatur	Myasthenia gravis	Acetylcholinrezeptoren	Hund
	Polymyositis	Sarkolemm, Bestandteile des Zellkernes	Hund
Gelenke	Rheumatoide Arthritis	Rheumafaktoren: IgM oder IgG, die gegen das Fc-Stück von IgG gerichtet sind	Hund