

Universitäts- und Landesbibliothek Tirol

Epidermale Langerhanszellen als Initiatorzellen für antimikrobielle Immunantworten

Zanella, Monica

1995

1. Einleitung

1 Einleitung

1.1 Das Konzept der Langerhanszelle und der dendritischen Zelle - Eine Einführung

1.1.1 Ein historischer Abriß über die Entdeckung der Langerhanszelle.

Die Langerhanszelle wurde erstmals 1868 vom Medizinstudent Paul Langerhans entdeckt und mittels einer Goldchloridfärbung als dendritische Zelle in der Epidermis nachgewiesen (1). Wegen ihrer dendritischen Zellausläufer wurde sie als Rezeptorzelle von Sinnessignalen also als ein Bestandteil des Nervensystemes gedeutet.

Erst 1961 konnte man mit dem Elektronenmikroskop tennisschlägerartige Zellorganellen, die Birbeck-Granula, im Zytoplasma beobachten (2). Ihre Funktion ist bis heute nicht genau bekannt, doch dienen sie als spezifische Marker für die Langerhanszellen.

In den siebziger Jahren wurden der Fc-Rezeptor (Oberflächenrezeptor für das Fc-Fragment von Immunglobulin-Molekülen) und der C3-Rezeptor (Rezeptor für das zentrale Protein C3 im Komplement System) nachgewiesen (3). Es folgten der Nachweis von Ia-Antigenen an der Langerhans-Zell-Oberfläche (4,5) und der Fähigkeit in vitro T-Zellen zu stimulieren (6).

Weiters wurde nachgewiesen, daß die Langerhanszellen aus dem Knochenmark stammen (7) und die Epidermis besiedeln. Schuler und Steinman postulierten, daß es sich bei Langerhanszellen um unreife dendritische Zellen handeln müsse (8), die während einer dreitägigen Kultur morphologische, phänotypische und funktionelle Veränderungen erfahren. Somit präsentieren kultivierte, epidermale Langerhanszellen denselben Phänotyp wie, ebenfalls kultivierte, dendritische Zellen aus der Milz oder dem Blut (9).

Zusammenfassend ergeben die Untersuchungen, daß man kultivierte Langerhanszellen gleichsetzen kann mit lymphoiden dendritischen Zellen, da sie die beiden grundsätzlichen Eigenschaften zur Aktivierung von ruhenden T-Zellen (d.h. Bildung des Liganden-MHC/Antigen-Komplexes und Sensibilisierung der T-Zellen) besitzen.

1.1.2 Die Langerhanszelle im System der dendritischen Zellen.

Langerhans-Zellen gehören zu den Leukozyten, die in der Epidermis residieren (10). Innerhalb der Leukozyten gehören sie der myeloiden Zellreihe an. Sie werden zu dem System der dendritischen Zellen gezählt (11).

Die dendritischen Zellen wurden erstmals von Steinman und Cohn im Jahre 1973 in der Milz von Mäusen beobachtet und beschrieben (12). Ihre Beobachtungen wurden dadurch erschwert, daß dendritische Zellen weniger als 1 % der Zellzahl sei es in der Milz, als auch im Thymus, Lymphknoten oder Blut ausmachen.

Die dendritischen Zellen stellen ein System von antigenpräsentierenden Leukozyten dar, die als "Adjuvans der Natur" (11,13) zur Einleitung primärer Immunantworten spezialisiert sind. Sie stehen somit am Beginn aller T-Zell abhängigen Prozesse, d.h. aller Immunantworten: Typ IV Immunreaktionen inklusive Transplantatabstoßung, Virusabwehr, Tumorüberwachung durch T-Zellen, sowie primäre Antikörperantworten.

1.1.3 Merkmale dendritischer Zellen

Dendritische Zellen besitzen folgende Merkmale, die sie distinkt von Zellen des Makrophagen-Systems trennen:

- 1) Lymphoide dendritische Zellen können von verschiedenen lymphatischen Geweben isoliert werden wie z. B. der Milz, den Lymphknoten, den Tonsillen und dem Thymus und können ebenso von verschiedenen Organismen wie Maus, Ratte oder Mensch stammen. Isolierte dendritische Zellen adhären nur anfänglich an der Oberfläche, schon nach einigen Stunden Kultur sind sie als nicht-adhärente Zellen auszumachen, wobei im Gegensatz dazu Makrophagen als strikt adhärente Zellen zu beschreiben sind.
- 2) Dendritische Zellen besitzen eine charakteristische Morphologie: als residente, unreife dendritische Zellen z. B. in der Haut oder in den Atemwegen besitzen sie dendritische Fortsätze. Epidermale Langerhanszellen, im besonderen, haben typische Zellorganellen (Birbeck-Granula). Nach einiger Zeit in Kultur bilden sich dünne Zytoplasmafortsätze sogenannte "veils", Schleier, aus, die frei von jeglichen Organellen sind. Diese "schleierhaften" Fortsätze können aktiv ein- und ausgezogen werden. Keine anderer Leukozyt ist zu so etwas befähigt.

- 3) Lymphoide dendritische Zellen zeichnen sich durch eine sehr gute Makropinocytose" (14) aus. Die Fähigkeit der Phagozytose ist vergleichsweise schwach (15-17).

- 4) Ebenso besitzen sie phänotypische Marker, Moleküle, die auf der Zelloberfläche exprimiert werden, die sie zu einer Zelllinie zugehörig machen. So wie alle Leukozyten exprimieren sie das CD45 Leukozyten-Antigen. Außerdem reagieren sie nicht oder nur schwach mit einer großen Anzahl von monoklonalen Antikörper gegen Makrophagen. Besonders frisch isolierte dendritische Zellen exprimieren einige Makrophagen/Monozytenmarker in vergleichsweise geringem Maße, so z.B. CD32 - Fc-Rezeptor, F4/80 - Makrophagenantigen, Zelloberflächen-ATPase, unspezifische Esterase (8), CD115-Rezeptor für den Makrophagen-Kolonie-Stimulierenden Faktor (18,19). Das weist auf die gemeinsame Abkunft von dendritischen Zellen und Makrophagen hin. Die Expression dieser Moleküle verliert sich mit der Reifung der dendritischen Zellen. Weiters exprimieren sie keine T-Zell-Marker wie CD3 und T-Zell-Rezeptoren, ebenso exprimieren sie keine membrangebundenen Immunglobuline wie sie für B-Lymphocyten charakteristisch sind (20).

- 6) Ein weiteres Merkmal für dendritische Zellen ist die Expression von hohen Mengen von MHC-Klasse-II-Molekülen. Im Gegensatz zu Makrophagen ist die Expression der MHC-Klasse II Moleküle konstitutiv und nicht durch Interferon-gamma induzierbar. Frisch isolierte und mehr noch kultivierte Langerhanszellen besitzen große Mengen an MHC-Klasse-II-Molekülen (20).

Zusammenfassend kann man dendritische Zellen der Maus in situ als MHC Klasse II-positive und als CD45-positive Zellen mit dendritischer Morphologie charakterisieren.

Tabelle 1.1.3: In Übersicht ein Vergleich zwischen dendritischen Zellen und Makrophagen.

Aspekte	Dendritische Zellen	Makrophagen
Cytologie		
Form	Bildung von dendritischen Fortsätzen bei frisch isolierten dendritischen Zellen, Pseudopodien und "veils"(Schleier) bei kultivierten dendritischen Zellen	eher "seßhaft"
Zellkern	oval oder irregular	nierenförmig
Mitochondrien	rund	eher filamentös
Endoplasmatisches Retikulum	mehr glattes Endoplasmatische Retikulum	mehr rauhes Endoplasmatische Retikulum
Endosomen ,Lysosomen	wenige	viele
Cytochemie		
Unspezifische -Esterasen	schwach-negativ (frisch isolierte dendritische Zellen) negativ (kultivierte dendritische Zellen)	positiv
Membran ATPase	positiv (frisch isolierte dendritische Zellen) negativ (reife dendritische Zellen)	positiv
Adhärenz		
In Kultur	schwach variabel- nicht adhärent	strikt adhärent
Endocytose		
Phagozytose	schwach	aktiv
Pinozytose	aktiv (Makropinozytose)	sehr aktiv
Membran- Marker (Maus)		
Zelllinie	33D1, NLDC145, N418	F4/80
Fc-Rezeptor	nicht nachweisbar	vorhanden
Komplement -Rezeptor	schwach	vorhanden
Leukozyten- Antigen (CD45)	vorhanden	vorhanden
MHC-Klasse I	vorhanden	vorhanden
MHC-Klasse II	vorhanden (konstitutiv)	vorhanden (induzierbar)

1.1.4 Verteilung der dendritischen Zellen im Gewebe

Lymphatisches Gewebe besitzt T- und B-Zell-Areale, wobei in jedem dieser Areale verschiedene Typen von akzessorische Zellen vorkommen: interdigitierende Zellen in T-Zell-Arealen und folliculäre dendritische Zellen in B-Zell-Arealen (21). Lymphoide dendritische Zellen findet man als interdigitierende Zellen in den T-Zell-Arealen von der Milz und von Lymphknoten, sowie in der Medulla des Thymus (22). Außerdem wurde noch eine zweite Population von dendritische Zellen gefunden, die in der marginalen Zone der Milz vorkommt (23). Die folliculären dendritischen Zellen in den B-Zell-Arealen gehören nicht zu der Reihe der lymphoiden dendritische Zellen (21) und es ist immer noch nicht ganz klar, ob die folliculären dendritischen Zellen überhaupt Leukozyten sind.

Dendritische Zellen kommen nicht nur in lymphatischen Geweben vor, sondern auch in nicht-lymphatischen Geweben wie z. B. in der Epidermis der Haut. Dort bezeichnet man diese nicht-lymphoiden dendritische Zellen als Langerhans-Zellen.

Tabelle 1.1.4: Die verschiedenen Arten von dendritischen Zellen und ihre Verteilung im Gewebe.

	Zellen	Lokalisierung
Lymphatisches Gewebe	Interdigitierende Zellen	T-Zell-Areale von sekundärem lymphatischem Gewebe; Medulla des Thymus
	Marginale dendritische Zellen	Marginale Zone der Milz
Nicht lymphatisches Gewebe	Langerhanszellen	Epidermis der Haut
	Nicht-lymphatische dendritische Zellen	Anderes nicht lymphatisches Gewebe, z.B. Dermis, Herz, Niere
Körperflüssigkeiten	"veiled"-Zellen	Afferente Lymphe
	Blut-dendritische Zellen	Peripheres Blut

Weiters wurden Zellen aus peripherem humanen Blut isoliert, die sich nicht von lymphoiden dendritischen Zellen unterscheiden (24,25). Es wird angenommen, daß sich diese Zellen auf ihrem Weg vom nicht-lymphatischen Gewebe zu lymphatischem Gewebe befinden. Diese Vermutung der Wanderung von dendritischen Zellen aus nicht lymphatischem Gewebe über das Blut in die Milz, wird von Experimenten bestätigt, in denen eine allogene Transplantation von Herzen bei Mäusen durchgeführt wurde. Diese allogenen dendritischen Zellen wurden dann später in den

Empfängermilzen mit $CD4^+$ -T-Zellen assoziiert gefunden (26). Andererseits besteht auch die Möglichkeit, daß es sich um dendritische Zellen auf dem Wege vom Knochenmark in die peripheren Gewebe handeln könnte .

Grundsätzlich scheint es also zwei parallele Wege zu geben über denen dendritische Zellen wandern können (siehe Abb.: 1.1.4): erstens über die afferente Lymphe in die Lymphknoten und zweitens über das Blut in die Milz (27).

Wie man sieht handelt es sich bei den dendritischen Zellen und deren Zirkulation, wie bei den Lymphozyten, um ein dynamisches System, das in der Abb.1.1.4 übersichtlich zusammengefaßt wird.

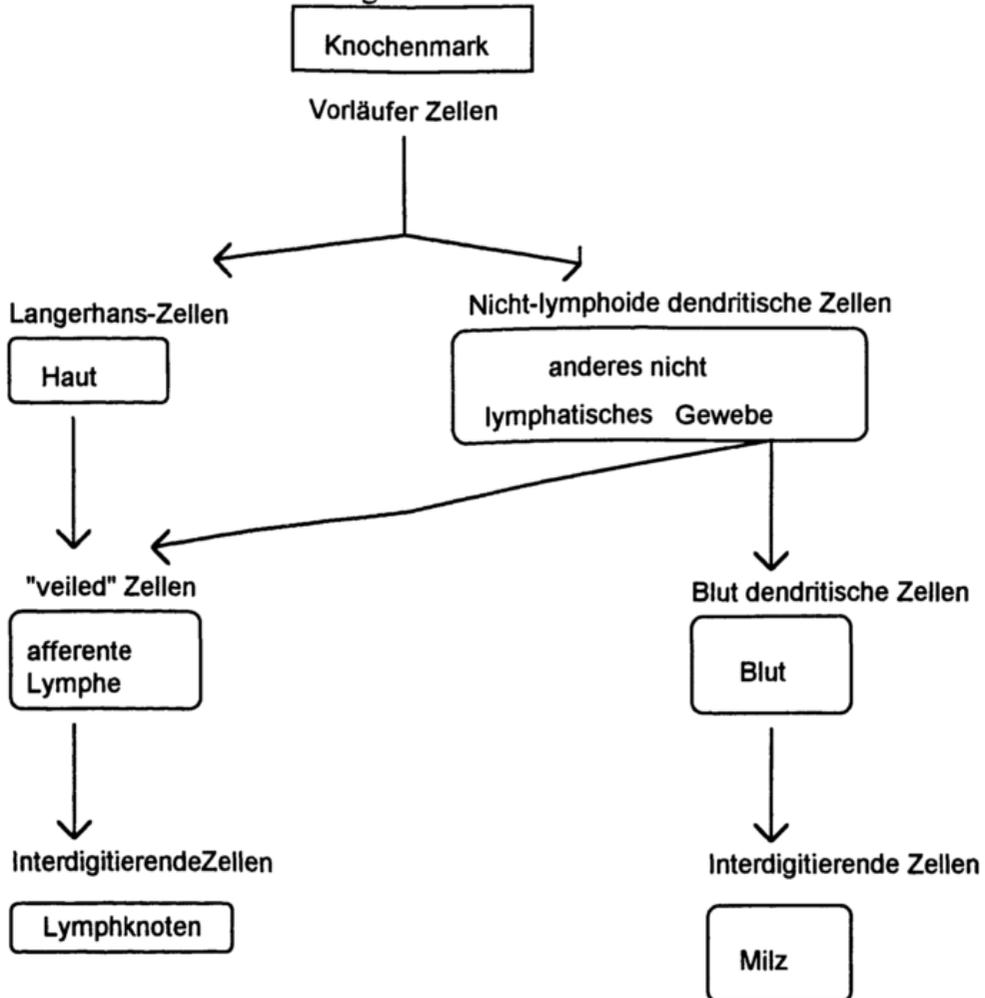


Abb. 1.1.4 Migrationswege von dendritischen Zellen

1.1.5 Immunologische Funktionen der dendritischen Zellen und Induktion der Immunantwort

Durch verschiedene Versuche konnten die immunologischen Eigenschaften der dendritischen Zellen detaillierter beschrieben werden :

1) Stingl et al. konnten zeigen, daß Langerhanszellen epidermale, antigenpräsentierende Zellen für proliferative und cytotoxische T-Zellen sind (6,28).

2) Schuler und Steinman konnten mittels folgender Studien zeigen, daß die Langerhanszelle dendritischer Natur ist: kultiviert man epidermale Langerhanszellen 2-3 Tage so beobachtet man eine Reihe von Veränderungen in der Morphologie, im Phänotyp und in der Funktion, die kennzeichnend und typisch sind für dendritische Zellen aus dem Blut bzw. für lymphoide dendritische Zellen (8,29).

Das Kennzeichen frisch isolierter Langerhanszellen ist ihre geringe stimulatorische Kapazität für ruhende T-Zellen (8). In diesem Stadium können sie aber äußerst effizient exogenes Proteinantigen prozessieren und im MHC-Klasse-II-Komplex den T-Zellen präsentieren (30). Gleichzeitig korreliert diese Fähigkeit mit der Anwesenheit von sauren Organellen in frisch isolierten Langerhanszellen (31). In diesen Organellen erfolgt die enzymatische Zerlegung der Proteine in Peptide und die Assoziation der Peptide an die MHC-Klasse II Moleküle (32-34). Weiters korreliert die ausgeprägte Prozessierfähigkeit mit der Biosynthese von großen Mengen der dazu notwendigen MHC-Klasse II und "Invariant chain" Molekülen (35-37). Kultivierte Langerhanszellen (2-3 Tage) hingegen werden zu starken Stimulatoren von ruhenden T-Zellen, indem sie die Fähigkeit erwerben ruhende T-Zellen in einer antigenunabhängigen Weise zu Aggregaten zu binden (38,39) und zusätzlich hohe Mengen von Adhäsionsmolekülen und Molekülen mit kostimulatorischen Funktionen (B7-1/CD80, B7-2/CD86) zu exprimieren (40-43). Gleichzeitig verlieren sie die Fähigkeit MHC-Klasse-II-Komplexe zu synthetisieren und außerdem verlieren sie auch die sauren Organellen. Ein wichtiger Unterschied zwischen reifen Langerhanszellen und Makrophagen besteht darin, daß die MHC-Klasse-II-Komplexe stabil an der Zelloberfläche bleiben und so die Langerhanszellen befähigt sind bis in die Lymphorgane immunogen zu bleiben (35).

3) Es wurde gezeigt (44,45), daß für die Reifung von Langerhanszellen das Zytokin GM-CSF verantwortlich ist: werden frisch isolierte Langerhanszellen hochangereichert und wird GM-CSF dazugegeben, so erhält man die Langerhanszellen am Leben und erhöht ihre immunostimulatorische Fähigkeiten; kultiviert man eine epidermale Zell-Suspension mit einer Konzentration von 1-3% Langerhanszellen für 2-3 Tage so wird genügend GM-CSF von den

Keratinocyten ausgeschüttet, um ein Überleben und eine Reifung zu gewährleisten (46,47).

- 4) Frisch isolierte Langerhanszellen können nur schwach ruhende, naive T-Lymphocyten in einer allogenen gemischten Leukozyten Reaktion (MLR) stimulieren; schon nach kurzer Zeit in Kultur ist ihre T-Zell-Stimulationskapazität für ruhende T-Lymphocyten 30-100-fach höher (8,29). Ihre T-Zell-Stimulationskapazität ist hiermit gleichzusetzen mit jener von dendritischen Zellen aus der Milz.
- 5) Aktivierte T-Zellen, sogenannte Blasten, werden sowohl von frischen als auch von kultivierten Langerhanszellen stimuliert (29).
- 6) Lymphoide dendritische Zellen (38) und kultivierte Langerhanszellen, aber nicht frisch isolierte Langerhanszellen können ruhende T-Zellen in einer antigenunabhängigen Weise aggregieren (29,39). Dies ist nicht durch eine erhöhte Expression des MHC-Klasse-II Komplexes während der Kultur zu erklären (11). Auch die bisher identifizierten Adhäsionsmoleküle sind nicht für diese initiale, antigenunabhängige T-Zell Bindung verantwortlich. Das postulierte "Clustermolekül" auf dendritischen Zellen wird mit molekularbiologischen Ansätzen gesucht (48).

Diese Studien ergaben also, daß die zwei wesentlichen Faktoren, die notwendig sind um eine Stimulation von ruhenden T-Zellen mittels epidermaler Langerhanszellen zu erhalten, zu verschiedenen Zeitpunkten der Zelldifferenzierung aktiviert und unterschiedlich reguliert werden: frisch isolierte Langerhanszellen können sehr gut Proteinantigenen prozessieren, aber schlecht ruhende T-Zellen stimulieren, kultivierte Langerhanszellen können hingegen schlecht Proteinantigen prozessieren, dafür aber sehr gut ruhende T-Zellen stimulieren (9,11) (siehe Abb.: 1.1.5). Der Zelldifferenzierungsprozeß, der während der Zellkultur abläuft, wird als *Reifung der dendritischen Zellen* bezeichnet.

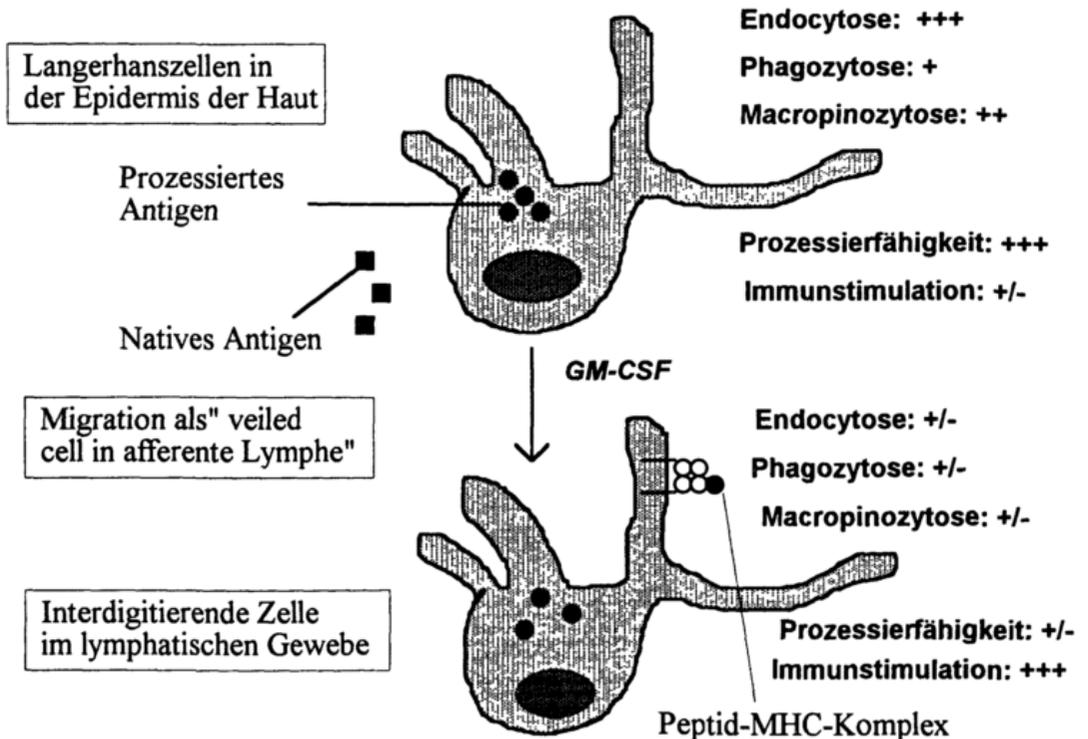


Abb.1.1.5 : Funktionelle und immunologische Unterschiede zwischen dendritischen Zellen im nicht-lymphatischen Gewebe, z.B. in der Haut und im lymphatischen Gewebe, z.B. im Lymphknoten.

1.2 Mechanismen der Langerhanszell-Reifung und der Migration

1.2.1 Das Konzept der Langerhanszell-Reifung.

Wie die Daten aus den in vivo Experimenten zeigen, durchlaufen die Langerhanszellen, die typischerweise in der Epidermis vorkommen, in Kultur einen Reifungsprozeß und werden zu solchen dendritischen Zellen, die in vivo in den lymphatischen Organen gefunden werden (9). Dieser Prozeß wird von GM-CSF vermittelt. Deswegen kann man schließen, daß jene Langerhanszellen, die in situ in der Epidermis (epidermale dendritische Zellen) vorkommen, unreife Vorläufer der reifen dendritischen Zellen im lymphatischen Gewebe (lymphatische dendritische Zellen) sind. So bilden die residenten Langerhanszellen ein Reservoir an dendritischen Zellen, welche nach einem Antigenstimulus zu den Lymphknoten wandern, während ihrer Migration zu reifen dendritischen Zellen werden und dort dann eine primäre Immunantwort einleiten können.

Beobachtet man die in vitro erhobenen Daten im Kontext der in vivo Situation, so kann man den Langerhanszellen im besonderen und dendritischen Zellen im allgemeinen drei verschiedene Funktionsbereiche abhängig von ihrer Zelldifferenzierung zuschreiben (11):

- 1) Dendritische Zellen im peripherem Gewebe sowie in der Epidermis üben eine *Wächterfunktion* aus: sie nehmen Antigen auf und prozessieren es. Gelangt Antigen direkt in die lymphatischen Organe, so gibt es auch dort unreife dendritische Zellen, die diese Funktion erfüllen können.
- 2) Da die Wahrscheinlichkeit für die Langerhanszellen sehr gering ist, in der Haut antigenspezifische T-Zellen zu finden, wandern sie in Richtung Lymphknoten. Dort zirkulieren riesige Mengen von T-Zellen hindurch und die Chancen, antigenspezifische T-Zellen zu finden, sind viel größer als in der Haut. Dies gilt insbesondere für primäre Immunantworten. Somit ist die migratorische Funktion der dendritischen Zellen ganz entscheidend für das Entstehen einer Immunantwort. Die Evidenz für eine Migration stammt unter anderem aus folgenden Untersuchungen (10,49): nach Auftragen von Hapten-Kontaktallergen auf die Haut konnte beobachtet werden, daß die Langerhanszellen die Epidermis verlassen, die Zahl der "veiled cells" in der afferenten Lymphe steigt und die haptenträgenden dendritischen Zellen mit Birbeck-Granula in den Lymphknoten zunehmen (50,51). Außerdem wurde die Emigration der Langerhanszellen aus der Epidermis auch in einem Organ-Kultur-Modell gezeigt (52).
- 3) Die *Adjuvansfunktion* der Langerhanszellen befähigt sie, ruhende T-Zellen zu binden und zu aktivieren, d.h. den ruhenden T-Zellen das Signal zu geben ihre Proliferation und Zytokinsynthese zu starten (53).

Es scheint offensichtlich zu sein, daß alle drei Funktionen von Zytokinen reguliert werden.

1.2.2 Charakteristika der Zytokine.

In der Körperabwehr von Virus- und Bakterieninfektionen kennt man einerseits die angeborene oder andererseits die erworbene Immunabwehr. In beiden Fällen spielen die Zytokine eine wichtige Rolle in der Effektorphase der Immunabwehr.

Obwohl die Zytokine zu verschiedenen Gruppen von Proteine gehören, besitzen sie alle gemeinsame Eigenschaften, die sie zu einer Gruppe von Proteinhormonen verbinden(54):

- 1) Zytokine werden während der Effektorphase der angeborenen und erworbenen Immunabwehr produziert: sie mediieren und regulieren die Immunantwort. So z.B. stimulieren mikrobielle Produkte, wie Lipopolysaccharide (LPS), in der angeborenen Immunantwort die Sekretion von Zytokinen. Andererseits sezernieren T-Zellen nur nach spezifischer Erkennung des Fremdartigens verschiedene Zytokine.
- 2) Die Zytokinsekretion ist ein Prozeß von kurzer Dauer, der sich selbst limitiert. Im allgemeinen werden Zytokine nicht als "vorgefertigte" Moleküle aufbewahrt, sondern ihre Synthese ist immer mit einer de novo Transkription verbunden und die mRNA ist meist instabil. Dies gewährleistet, daß die Zytokinsynthese nur dann stattfindet, wenn alle nötigen Signale gegeben sind. Die Zytokine werden dann rasch sezerniert.
- 3) Viele individuelle Zytokine werden gleichzeitig von verschiedenen Zelltypen produziert.
- 4) Zytokine wirken auf viele verschiedene Zelltypen: sie sind pleiotrop. Die frühere Ansicht, daß Zytokine vorwiegend von Leukozyten produziert werden und wiederum nur auf Leukozyten wirken ("Interleukine"), wird heute zu restriktiv betrachtet.
- 5) Zytokine haben oft verschiedene Wirkungen auf ein und dieselbe Zielzelle.
- 6) Zytokine beeinflussen die Synthese von anderen Zytokinen: so kann wie in einer Kaskade das zweite oder dritte Zytokin die biologische Wirkung des ersten beeinflussen. Die Fähigkeit eines Zytokins die Produktion eines anderen zu vermindern oder zu erhöhen birgt wichtige negative oder positive Regulationsmechanismen für die Immunantwort.
- 7) Zytokine beeinflussen oft die Wirkung von anderen Zytokinen: sie können als Antagonisten interagieren oder auch gegenseitig in additiver Weise wirken, also in einer synergistischen Wechselwirkung zueinander stehen.

- 8) So wie andere Polypeptidhormone binden auch die Zytokine an spezifische Oberflächenrezeptoren der Zielzellen. Es ist möglich, daß die Zielzelle dieselbe Zelle ist, die das Zytokin ausschüttet (autokrin), oder eine Nachbarzelle ist (parakrin) oder eine weiterentfernte Zelle ist (endokrin), die über ein in die Zirkulation ausgeschüttetes Zytokin stimuliert wird. Zytokinrezeptoren besitzen eine hohe Affinität für ihren Liganden ($K_D = 10^{-7}$ - 10^{-11}), was zur Folge hat, daß schon nur sehr geringe Mengen eines Zytokins für eine Zielzelle wirksam sind.
- 9) Die Expression vieler Zytokinrezeptoren wird von spezifischen Signalen reguliert: das Signal können andere Zytokine sein oder das Zytokin selbst, welches an den Rezeptor gebunden entweder eine positive Amplifikation oder eine negative Rückkopplung ausübt.
- 10) Für viele Zielzellen wirken die Zytokine als Regulatoren für die Zellteilung, wie z. B. Wachstumsfaktoren.

1.2.3 Zellulärer Ursprung für Zytokine in der Epidermis.

Langerhanszellen und Keratinocyten sind die Hauptquelle für Zytokine in der Epidermis. Auch andere epidermale Zellen wie z. B. Melanocyten oder epidermale T-Zellen tragen wesentlich zu dem Pool der Zytokine bei. Außerdem besteht die Möglichkeit, daß Zellen der Dermis Zytokine produzieren, die in die darüberliegende Epidermis diffundieren, also in ähnlicher Weise wirken wie intradermal injizierte Zytokine (55).

↗ Keratinozyten:

Langerhanszellen sind in einem Zellverband eingebettet, welcher vorwiegend aus Keratinozyten besteht. Deswegen spielen auch die löslichen Mediatorstoffe, die von diesen Zellen synthetisiert und sezerniert werden, eine so wichtige Rolle in der Regulation der Langerhanszellen.

Bezüglich der Zytokinproduktion von Keratinozyten ist es wichtig zu unterscheiden, ob die Zellen potentiell dazubefähigt wären in Kultur, unter mehr oder weniger physiologischen Stimuli, ein bestimmtes Zytokin zu produzieren, oder ob die Zellen in situ die Zytokine exprimieren können. Frisch isolierte Keratinozytensuspensionen werden oft als Äquivalente von Keratinozyten in situ betrachtet. Doch dieses muß man mit Vorsicht betrachten, denn neueren Studien zufolge werden gewisse Zytokin mRNA's während der Präparation der Keratinozytensuspension hinauf reguliert (56).

Es ist also wichtig zwischen der Expression der mRNA, der Synthese von Zytokinproteinen und der Sekretion von biologisch aktiven Zytokinproteinen zu unterscheiden. Denn das eine muß nicht zwingend aus dem anderen folgen. So z.B. kann eine mRNA Expression stattfinden doch das entsprechende Zytokin muß nicht sezerniert werden. Andererseits können Zytokine mit Antikörper nachgewiesen werden, die aber biologisch inaktiv sein können (57).

Die Daten der Polymerase Ketten Reaktion (PCR) (56,58-60) zeigen, daß murine Keratinozyten in situ oder als frisch isolierte Keratinocyten weit weniger Zytokine synthetisieren als in Kultur. Immunologisch aktives IL-1 α und IL-1 β , IL-8 und TNF- α wurden in normaler humaner Haut in situ nachgewiesen, jedoch nur IL1- α konnte in biologisch aktiver Form aus der Haut extrahiert werden.

Kupper et al.(61) konnten nachweisen, daß Keratinozyten die mRNA für IL-1 α und IL-1 β exprimieren, doch nur das IL-1 α kann in seiner biologisch aktiven Form sezerniert werden (62). Keratinocyten produzieren außerdem GM-CSF, M-CSF und G-CSF, wobei für GM-CSF und M-CSF die mRNA, das Protein und dessen biologische Aktivität nachgewiesen werden konnten (63-65). Die TNF- α Produktion konnte in Keratinocyten-Kultur und in vivo im kutanen Gewebe nachgewiesen werden. Im Gegensatz zur IL-1 Genexpression benötigt die TNF- α Genexpression in Keratinocyten einen induktiven Stimulus (66). Außerdem produzieren die Keratinozyten in vivo und in vitro, im humanen und im murinen System IL-6 (67,68). Die IL-7 Produktion von Keratinozyten konnte nachgewiesen werden (69), die IL-9 und IL-11 Produktion gilt jedoch nicht als gesichert. Letztendlich konnten Enk et al. die Zytokinproduktion des IL-10 nachweisen (70). IL-12 wird von kultivierten humanen Keratinozyten sezerniert (71,72); in murinen Keratinozyten fanden Heufler, Koch und Mitarbeiter aus unserem Labor weder Protein noch mRNA (73). Ganz rezent wurde gezeigt, daß murine Keratinozyten in Kultur den T-Zell-Wachstumsfaktor IL-15 produzieren (74).

☞ Langerhanszellen:

Im murinen System konnte die mRNA für nur vier verschiedene Zytokine nachgewiesen werden: frisch isolierte Langerhanszellen und Langerhanszellen in situ exprimieren MIP-1 α , MIP-2, wenig IL-1 β und kein IL-1 α . Nach 2-3 Tagen Kultur wird die IL-1 β Expression stark hinaufreguliert. Die IL-1 α Expression wird jedoch während der Kultur nicht induziert. Außerdem kann die mRNA für IL-6 und seine Bioaktivität in kultivierten Langerhanszellen gefunden werden (58-60,75).

Die mRNA für TNF- α (76) wird dann gefunden, wenn die Langerhanszellen mit LPS oder PMA stimuliert werden. Also sind auch Langerhanszellen unter bestimmten Bedingungen befähigt die mRNA für TNF- α zu exprimieren.

Tabelle 1.3.2: Regulation der mRNA Expression von Langerhanszellen und Keratinozyten während in vitro Kultur und nach Auftragen von Kontaktallergen.

Zytokine	Langerhanszellen in Kultur	Langerhanszellen nach Sensibilisierung	Keratinozyten nach Sensibilisierung
IL-1 α	/	/	+
IL-1 β	+	+	-
IL-6	+	/	/
GM-CSF	---	/	+
TNF- α	---	/	+
MIP-1 α	-	/	/
IL-10	-	/	+
MIP-2	-	/	+

Legende: Langerhanszellen 2-4 Tage Kultur,
 /....nicht gemacht
 +....Zunahme
 -....Abnahme
 --- keine Expression

1.2.4 Expression der Zytokinrezeptoren auf den Langerhanszellen.

Aus verschiedenen Gründen sind die Daten über die Expression von Zytokinrezeptoren auf Langerhanszellen sehr verstreut und schwer zu finden:

1) Die Oberflächenexpression der Zytokin-Rezeptoren ist im allgemeinen sehr niedrig (einige 100-1000 Rezeptoren/Zelle), sodaß deren Nachweis sehr schwierig oder fast unmöglich ist.

2) Mit der klassischen Methode für eine Quantifizierung der Rezeptoren (Bindungs-Assays mit radioaktiven Liganden), benötigt man eine hohe Zahl von Zellen (10^6 Zellen pro Meßpunkt) um die geringe Rezeptorzahl zu kompensieren.

3) Zytokinrezeptoren sind meist Trypsin sensitiv. Da während der Reinigung von frisch isolierten Langerhanszellen Trypsin eingesetzt wird, können solche Bindungsassays nicht angewandt werden.

Im folgenden Abschnitt möchte ich einen Überblick über die Expression der Zytokinrezeptoren geben:

↗ IL-1 Rezeptor:

Es gibt zwei verschiedene IL-1 Proteine: das IL-1 α und das IL-1 β , die beide ähnliche biologische Aktivitäten besitzen. Beide werden als intrazytoplasmatische Vorläuferproteine synthetisiert und prozessiert. Im Gegensatz zum pro-IL-1 α ist das pro-IL-1 β kein funktionelles Protein und wird von dem spezifischen "IL-1 β converting enzyme" (ICE) prozessiert, welches jedoch nicht von Keratinozyten gebildet wird (62). Zudem sezernieren Zellen auch das IL-1 Rezeptor-Antagonist-Protein (IL-1ra), welches strukturelle Ähnlichkeiten mit dem IL-1 β hat. Als viertes Protein findet man in Keratinozyten auch das intrazelluläre IL-ra (icIL-ra), das die hydrophobe Leadersequenz nicht besitzt.

Nun gibt es dazu die passenden Rezeptoren: der 80 kD-Typ I Rezeptor bindet IL-1 α , IL-1 β , pro-IL-1 α und den IL-1ra mit ähnlicher Affinität von ca. 100 pM und gilt als prinzipieller Mediator für alle IL-1 Antworten (77), und der 60 kD-Typ II-Rezeptor, der keine IL-1 Signale übertragen kann, jedoch IL-1 α und IL-1ra mit einer 10 bis 100 fachen niederen Affinität als das IL-1 β bindet, sodaß er auch ein relativ spezifischer Antagonist für das IL-1 β ist (78). Der IL-1ra ist ein Antagonist für beide IL-1 α und IL-1 β , da er irreversibel an den Typ-I-Rezeptor bindet, aber keine Signale auslöst. Zusammenfassend besteht also natürliches IL-1 aus einem Gemisch von Agonisten (pro- IL-1 α , IL-1 α und IL-1 β) und Antagonisten (IL-1ra, icIL-1ra, IL-1 Rezeptor Typ-II).

Ausgehend von der Beobachtung, daß IL-1 eine wichtige Rolle in der Ausbildung der akzessorischen Funktionen der Langerhanszellen spielt (44), ist es interessant einen Vergleich in der IL-1 Rezeptor Expression auf Langerhanszellen mit jener auf dendritische Zellen aus der Milz zu ziehen. Es konnten sowohl auf frischen als auch auf kultivierten Langerhanszellen hochaffine Rezeptoren für IL-1 α und IL-1 β beobachtet werden (79). Die Zahl der Oberflächenrezeptoren scheint während der Kultur von 2000 Rezeptoren pro frische Langerhanszelle auf 500 Rezeptoren pro kultivierte Langerhanszelle hinabreguliert zu werden (79). Dendritische Zellen aus der Milz scheinen noch weniger Rezeptoren zu haben als kultivierte Langerhanszellen. Aus den Daten von Kämpgen et al. (79) kann man schließen, daß unreife Langerhanszellen eine hohe Zahl von IL-1 Rezeptoren exprimieren. Somit scheint das IL-1 direkt auf Langerhanszellen über den funktionellen, hochaffinen Typ-I IL-1 Rezeptor zu wirken und eine kritische Rolle in den frühen Ereignissen der funktionellen Reifung von Langerhanszellen zu spielen. Außerdem konnte Watanabe et al. (80) zeigen, daß am Rezeptor gebundenes IL-1 β die GM-CSF-Rezeptor Expression steigert und das zu einer Reifung der Langerhanszellen führt.

↗ GM-CSF-Rezeptor:

Die Reifung der Langerhanszellen wird von GM-CSF unterstützt. Sei es auf kultivierten murinen Langerhanszellen als auch auf dendritischen Zellen der Milz beobachtet man eine etwa gleich große Anzahl von GM-CSF Rezeptoren.

Kultivierte Langerhanszellen besitzen eine große Anzahl von hochaffinen Rezeptoren für GM-CSF ($3 \cdot 10^3$ /Zelle) ebenso dendritische Zellen der Milz ($2 \cdot 10^3$ /Zelle), Makrophagen vergleichsweise weniger als $1 \cdot 10^3$ /Zelle (81). Es konnte nur ein GM-CSF Rezeptor Typ identifiziert werden, der sei es auf Langerhanszellen als auch auf dendritischen Zellen exprimiert wird. Er besteht aus zwei Untereinheiten: einer niedrigaffinen α -Kette, welche spezifisch GM-CSF bindet aber kein Signal weiterleiten kann, und aus einer β -Kette, die das Signal weiterleiten kann aber unfähig ist den Liganden zu binden (82).

Man erwartet sich, daß frisch isolierte Langerhanszellen eine höhere Konzentration von Rezeptoren besitzen, da sie zu der Zeit noch hochempfindlich auf GM-CSF reagieren. Wegen der Trypsinsensitivität der GM-CSF Rezeptoren während der Präparation von frisch isolierten Langerhanszellen konnten sie bis jetzt noch nicht bestimmt werden.

↷ TNF- α Rezeptoren:

Es ist nachgewiesen, daß es zwei verschiedene TNF- α Rezeptoren gibt: den 55000 MW TNF-R1 und den 75000 MW TNF-R2. Der murine und humane TNF-R1 zeigen große Homologien in ihrer extrazellulären Domäne und als Folge davon besitzen das murine und humane TNF- α eine ähnliche Affinität zum TNF-R1. Im Gegensatz dazu zeigt das TNF-R2 eine stark konservierte intrazelluläre Domäne, weswegen er eine strenge Selektivität gegenüber homologer Zytokine zeigt (83). Untersuchungen von Cumberbatch et al. (83) zeigen indirekt, daß Langerhanszellen nur den TNF-R2 Rezeptor und Keratinozyten nur den TNF-R1 Rezeptor exprimieren. Der Typ 2 Rezeptor bindet nur murines TNF- α und kein humanes, der Typ 1Rezeptor hingegen kann speziesunspezifisch beide TNF- α binden. Brockhaus et al (84) konnten zeigen, daß kultivierte humane Langerhanszellen nur den 55 kD TNF- α R1 exprimieren und, daß dessen Expression für die TNF- α medierte Regulation des Adhäsionsmoleküls ICAM 1 auf Keratinozyten verantwortlich ist. Mittels PCR konnten sie weiters nachweisen, daß auf Keratinozyten keine 75 kD TNF- α R2 Expression stattfindet und somit die TNF- α Antwort der humanen Keratinozyten von der TNF- α R1 Expression abhängig ist.

1.2.5 Wirkung der Zytokine auf die Funktionen der Langerhanszellen.

Wie schon früher erwähnt zeichnen sich frisch isolierte Langerhanszellen der Epidermis dadurch aus, daß sie effizient natives Proteinantigen aufnehmen und prozessieren können und dabei Peptid/MHC-Komplexe für die Erkennung durch den T-Zellrezeptor bilden können. In vivo üben also die Langerhanszellen eine Wächterfunktion in der Epidermis aus, wo sie Antigen aufnehmen, prozessieren und präsentieren.

Es ist nur wenig über den Einfluß von Zytokine auf die Antigenaufnahme und Antigenprozessierung bekannt. Einige Versuchsergebnisse weisen jedoch auf eine hemmende Wirkung von $\text{TNF-}\alpha$ auf die Antigenpräsentierung (85) hin: werden frisch isolierte, hochangereicherte Langerhanszellen mit nativem Proteinantigen (z.B. Myoglobin) inkubiert, so prozessieren sie das Protein und können deren Peptide, nur wenn sie in Keratinozyten-konditioniertem Medium gehalten werden, 2-3 Tage lang in den Gruben des MHC-Klasse-II-Komplexes halten. Nach 3 Tagen können diese Langerhanszellen peptidspezifische T-Zellhybridome stimulieren (85), jene Langerhanszellen, die jedoch in Anwesenheit von $\text{TNF-}\alpha$ kultiviert worden sind, können peptidspezifische Zellhybridome nicht stimulieren. Im Gegensatz dazu können frisch isolierte Langerhanszellen mit nativem Myoglobin trotz Anwesenheit von $\text{TNF-}\alpha$ peptidspezifische T-Zellhybridome stimulieren. Daraus kann man schließen, daß die gleichzeitige Anwesenheit von $\text{TNF-}\alpha$ nicht das Prozessieren beeinträchtigt, sondern vielmehr den Verlust des schon prozessierten Antigen aus der Peptidbindungsgrube des Klasse-II-MHC-Komplex bewirkt.

Streilein et al. (86) konnten in einem anderen experimentellen Modell die Bedeutung des $\text{TNF-}\alpha$ in der Induktion der Immunantwort aufzeigen: UV-B Licht ist nachweislich schädlich für das Immunsystem der Haut von Mäuse, und eine direkte Folge ist die beeinträchtigte Induktion der Kontakthypersensitivität nach Hapten Auftrag auf UV-B exponierter Haut. Sie konnten zeigen, daß die schädliche Wirkung von UV-B auf Kontakthypersensitivität vorrangig von $\text{TNF-}\alpha$ und cis-urocanic-acid (UCA) mediert wird. Intracutane Injektionen von $\text{TNF-}\alpha$ lösten derartige Veränderungen in der Cutis aus, daß nach Auftrag von DNFP auf die behandelte Haut eine hapten-spezifische Toleranz induziert wird und Supressorzellen generiert werden (87).

Diese Beispiele zeigen, daß die Wächterfunktion der Langerhanszellen von Zytokinen reguliert wird. In vivo sind die Langerhanszellen wahrscheinlich einem Gemisch von Zytokinen ausgesetzt, die in antagonistischer und/oder synergistischer Weise wirken. In vitro kann meist nur die Wirkung eines Zytokins beobachtet werden und nicht die Gesamtheit der Zytokine, die in vivo vorkommen.

Zytokine regulieren auch die Reifung von Langerhanszellen: GM-CSF (44,45) und TNF- α (88) erhalten die Viabilität von hochangereicherten Langerhanszellen. GM-CSF vermittelt zudem noch die Reifung frischer Langerhanszellen in immunstimulatorisch potente dendritische Zellen in der Kultur (44,45). TNF- α für sich alleine erhöht die Stimulationsfähigkeit der kultivierten Langerhanszellen für ruhende T-Zellen nicht (88). Außer GM-CSF, kann auch IL 1 α gemeinsam mit GM-CSF eine Erhöhung der T-Zell-Stimulation bewirken: die Zugabe von IL-1 zu einer Langerhanszell-Kultur mit GM-CSF führt zu einer zweifach stärkeren T-Zell-Sensibilisierung (44). In "Clustering-Experimenten" konnte gezeigt werden, daß durch Zugabe von IL-1 α die Bindungsfähigkeit von dendritischen Zellen an ruhende T-Zellen erhöht werden konnte, doch sind die verantwortlichen Oberflächenmoleküle noch unbekannt. Die Klasse-II-MHC-Expression wird durch IL 1 nicht hinaufreguliert (89).

1.2.6 Regulation der Migration von Langerhanszellen .

Es ist bis heute noch nicht ganz aufgeklärt welche Zytokine bzw. welche Kombination von Zytokinen die Emigration von Langerhanszellen aus der Epidermis reguliert. Rezente Studien (90) weisen darauf hin, daß TNF- α (Tumor-Necrose-Faktor- α) einen solch möglichen Stimulus setzen könnte. Injektionen von TNF- α - und nicht von GM-CSF- in die Dermis führen zu einer konzentrationsabhängigen Zunahme der dendritische Zellen in den Lymphknoten. Weitere Daten (90,91) untermauern die These, daß TNF- α eine wichtige Rolle in der Langerhanszell-Migration ausüben könnte: nach intradermaler Injektion von TNF- α konnte man eine Abnahme der Langerhanszellen in den epidermalen Sheets beobachten. Nylander-Lundqvist (92) konnten ähnliches nach intracutaner Injektion von rekombinantem IL-1 β feststellen: die Langerhanszell-Dichte nahm nach 2-7 Tagen merklich ab. Enk und Katz (58,93) konnten beobachten, daß nach IL1 β Injektion, ähnlich wie nach Kontaktallergenapplikation, die MHC-Klasse-II Expression auf Langerhanszellen anstieg und die Dichte der in der Epidermis zurückbleibenden Langerhanszellen sich deutlich verringerte.

Inwieweit noch andere Zytokine wie z.B. IL1- α , IL10 oder das Makrophagen Inflammatorische Protein MIP-2 eine Rolle in der Induktion der Migration spielen ist noch aufzuklären.

Eine ebenso wichtige Rolle in der Regulation der Migration spielen auch die Adhäsionsmoleküle, da die Langerhanszellen auf ihrem Weg von der Epidermis durch die afferente Lymphe zu den lymphatischen Organen sich zuerst aus dem epidermalen Verband lösen und durch die Basalmembran hindurch müssen und außerdem endotheliale Barrieren zu überwinden haben. Die Expression der Adhäsionsmoleküle

wird wiederum von Zytokine verschiedener Zelltypen reguliert. Aus in vitro Studien ist bekannt, daß die Oberflächenexpression von Adhäsionsmolekülen (ICAM-1/CD54, LFA-3/CD58 (40,41)) während der Kultur induziert wird. Inwiefern diese Expression nun von Zytokinen abhängig ist, ist noch recht unbekannt.

1.3 Mikrobiologische Aspekte der Funktion dendritischer Zellen (54).

Die pathogenen Mikroorganismen verschiedener Infektionskrankheiten kann man in vier große Gruppen einteilen: extrazelluläre Bakterien, intrazelluläre Bakterien und Viren. Vom Körper werden verschiedene Mechanismen und Strategien angewandt, um solche Infektionskrankheiten und dessen Pathogene zu unterdrücken und zu bekämpfen.

1.3.1 Die Immunabwehr gegen Mikroorganismen.

◇ Extrazelluläre Bakterien:

Extrazelluläre Bakterien können sich außerhalb der Wirtszelle vermehren. Diese Gruppe von Bakterien beinhaltet Gram-positive Kokken (*Staphylococcus*, *Streptococcus*), Gram-negative Kokken (*Neisseria meningococcus* und *gonococcus*), einige Gram-negative Bazillen (*Escherichia coli*) und auch Gram-positive Bazillen (besonders anaerobe wie z.B. *Clostridium*).

Extrazelluläre Bakterien rufen auf verschiedene Weise Infektionskrankheiten hervor. Einerseits können sie Entzündungen hervorrufen, wobei das infizierte Gewebe zerstört wird, andererseits können sie auch Toxine bilden: Endotoxine, welche Bestandteil der Bakterienzellwand sind, oder Exotoxine, welche aktiv von Bakterien sezerniert werden. Endotoxine von Gram-negativen Bakterien sind Lipopolysaccharide (LPS), welche als starke Stimulatoren der Zytokinproduktion, als Adjuvans oder als polyklonale Aktivatoren von B- Zellen wirken. Einige Endotoxine sind vorwiegend zytotoxisch und killen die Zellen über noch nicht genau bekannte Mechanismen. Die Wirkung anderer Endotoxine ist jedoch recht gut bekannt. Z.B. inhibiert das Diphtherietoxin die Proteinsynthese, das Cholera toxin stimuliert die cAMP Produktion und das Tetanustoxin ist ein Neurotoxin, welches persistente Muskelkontraktionen hervorruft.

In der Immunabwehr ist die humorale Immunität gegen extrazelluläre Bakterien am effektivsten, wobei in diesen Prozessen dendritische Zellen eine eher untergeordnete Rolle spielen.

☞ Intrazelluläre Bakterien:

Alle intrazellulären Bakterien überleben und vermehren sich innerhalb der Wirtszelle. Die pathogensten Bakterien sind jene, die resistent gegen die Lyse in Makrophagen sind und somit eine Phagozytose überleben. Die bekanntesten unter diesen Bakterien sind die Mycobakterien (Tuberkulose, Lepra) und *Listeria monocytogenes*. Solange diese Bakterien eine Nische finden, in der keine Antikörper vorkommen, können sie lange überleben und zu chronischen Erkrankungen führen. Die natürliche Immunabwehr des Körpers ist die Phagozytose bzw. die zellabhängige Immunabwehr.

☞ Viren:

Viren sind obligatorische intrazelluläre Mikroorganismen, die sich innerhalb der Zelle vermehren und die Nukleinsäure- und Proteinsynthesemaschinerie der Wirtszelle nutzen. Viele Viren dringen in die Wirtszelle ein, indem sie an wichtige physiologische Oberflächenproteine der Wirtszelle binden.

Drei bekannte Beispiele von Viren seien genannt: 1) HIV-1 Virus bindet an das CD4 Molekül der T-Zelle oder anderer CD4 exprimierender Zellen, wie z.B. dendritische Zellen. 2) Epstein-Barr Virus bindet an den Typ 2 Komplement Rezeptor (CD21) der B Zelle. 3) Das Rhinovirus bindet an das interzelluläre Adhäsionsmolekül ICAM-1 (CD54) verschiedener Zelltypen.

Die Immunabwehr gegen virale Infektionen ist eine Kombination von humoraler und zellulärer Abwehr.

1.3.2 Migration dendritischer Zellen ausgelöst von extrazellulären Bakterien und das damit verbundene Zusammenspiel einiger Zytokine (TNF- α und IL-1 α)

Dendritische Zellen des nicht-lymphatischen Gewebes können Fremdartigen aufnehmen und prozessieren, und wandern dann in sekundäres lymphatisches Gewebe, wo sie eine primäre Immunantwort auslösen können. Zur Zeit gibt es nur wenige Daten über die Art der Emigrationsstimulation der dendritische Zellen aus dem Gewebe.

Eine Verabreichung von Lipopolysacchariden (LPS), das Endotoxin von Gram-negativen Bakterien, induziert in vivo die Zytokinproduktion von TNF- α und IL-1 α (94). Zudem führt die Verabreichung von LPS zu einer konzentrationsabhängigen Abnahme der Klasse-II-MHC-positiven (Ia⁺) Leukozyten in Herz und Leber: mehr als 95% der dendritischen Zellen sind 1-3 Tage nach Injektion von 50 μ g LPS immunhistochemisch nicht mehr darstellbar. Es gibt einige

Hinweise, daß diese Abnahme auf der Migration der dendritischen Zellen beruht und nicht auf einem bloßen Verlust des Klasse-II-MHC-Komplexes oder auf zytotoxische Effekte. Ebenfalls in der Haut dieser Mäuse wurde eine Abnahme der Ia⁺ epidermalen Langerhanszellen und in der Dermis eine gleichzeitige Bildung von Cords (strangartige Ansammlung von stark MHC-Klasse II positiven Langerhanszellen in der Dermis) aus Ia⁺ Leukozyten beobachtet.

Auch die Verabreichung von optimalen Dosen von rekombinanten humanen TNF- α bewirkt eine Abnahme der Ia⁺ Leukozytenzahl in Herz und Nierenkortex. Auch die Zahl der epidermalen Langerhanszellen sinkt und gleichzeitig wird die dermale "cord"-Bildung induziert. Das rekombinante humane IL-1 α bewirkt eine Abnahme der Ia⁺ Zellen nur in der Nierenmedulla und der epidermalen Langerhanszellen in der Haut.

Die Behandlung der Mäuse mit einem neutralisierenden anti-TNF Antiserum vor der LPS Gabe, kann die Abnahme der Langerhanszellen in der Haut aber nicht in Herz und Leber hervorrufen. Daraus kann geschlossen werden, daß TNF- α und IL-1 α die Migration der dendritischen Zellen vom nicht lymphatischen Gewebe stimulieren. Noch ist es aber unklar ob sie direkt oder indirekt wirken.

Diese und noch andere Fragen, die ich im Kapitel Ziele und Problemstellung erläutern werde, versuche ich anhand gezielter Experimente aufzuklären.

1.3.3 Die Wirkung von TNF- α auf bakterielle und virale Infektionen

TNF- α besitzt die Fähigkeit Phagozyten zu aktivieren, um Bakterien, Hefen und Protozoen zu killen. Dieses kann durch Experimente in einem murinem Model mit *Listeria monocytogenes*, einem gram-positiven, fakultativen intrazellulären Bakterium dargelegt werden. Eine sublethale Listerieninfektion ruft eine lokale TNF- α Produktion in der Milz hervor. TNF- α kann weiters im Serum nachgewiesen werden, wenn eine höher und tödliche Inokulumkonzentration angewandt wird. Antikörper gegen TNF- α verzögert die Eliminierung der Bakterien in Milz und Leber, und hohe Dosen verwandeln eine sublethale Infektion in eine lethale. Außerdem konnte gezeigt werden, daß die Verabreichung von rekombinantem, murinem TNF- α in der frühen Infektionsphase die Mäuse vor einer tödlichen Bakteriendosis schützt (95,96).

Diese positiven Wirkungen des TNF- α konnten auch in anderen Modellen von Infektionskrankheiten gezeigt werden: Endotoxin resistente Mäuse, die unfähig sind TNF- α als Antwort auf Endotoxine zu produzieren werden leichter mit virulentem *E.coli* infiziert als normale Mäuse (97). Intratracheale Infektionen von Mäusen mit *Legionella pneumophila* induzieren die TNF- α Produktion in den Lungen und die Verabreichung von exogenem TNF- α erhöht die Eliminierung der Bakterien und

schützt die Mäuse vor dem Tod (98). Eine Kombination von TNF und Antibiotika verbessert die Bedingungen von *Staphylococcus aureus* infizierter Ratten (99). Die Verabreichung von TNF- α an *Plasmodium yoelii* infizierten Mäusen bewirkt eine langsamere Erhöhung in Parasitämie und gewährt eine verlängertes Überleben (100).

Aus diesen ausgesuchten Beispielen sieht man, daß bakterielle und virale Infektionen eine Erhöhung der TNF- α Produktion hervorrufen und, daß das TNF- α eine wichtige Rolle in der Immunabwehr von Infektionskrankheiten spielt. Noch sind die Mechanismen unklar wie es zu einer Erhöhung der TNF- α Produktion kommt, doch wahrscheinlich sind an diesem Vorgang Makrophagen aktiv beteiligt. Eine Wirkung des TNF- α auf dendritische Zellen ist dann nicht auszuschließen.

In meiner Arbeit habe ich mich nicht direkt mit den Mikroorganismen beschäftigt sondern indirekt mit den von ihnen hervorgerufenen Zytokinproteinen (z.B. TNF- α), die dann exprimiert werden, wenn ein Organismus (z.B. Maus) von Mikroorganismen infiziert ist. Besonderes Interesse legte ich auf die funktionelle Wirkung von TNF- α und IL-1 β auf die Migration von kutanen dendritischen Zellen.