

Experimentelle Pneumologie

Ruhr-Universität Bochum

M. Peters



Seminar Blut und Immunsystem

Kommunikation des Immunsystems

www.ruhr-uni-bochum.de/homeexpneu

Fragen zum Seminar: Kommunikation des Immunsystems

Aus welchen Zellen setzt sich das Immunsystem zusammen, welche Aufgaben haben die Zellen?

Welche experimentellen Möglichkeiten gibt es Immunzellen zu differenzieren?

Welche experimentellen Möglichkeiten gibt es eine Immunantwort zu untersuchen?

Wozu dienen primäre und sekundäre Lymphorgane, wie sind sie organisiert?

Was sind Zytokine bzw. Chemokine und wozu dienen diese Moleküle?

Welche Zellen produzieren IL-1, IL-2, IL-4, IL-8, IFN-alpha, IFN-gamma und was ist die Funktion dieser Zytokine?

Welche Interaktionen zwischen Oberflächenmolekülen spielen bei der Aktivierung von CTL eine wichtige Rolle, welche beim Auslösen der Apoptose in virusinfizierten Zellen, welche bei der Aktivierung von T-Helferzellen?

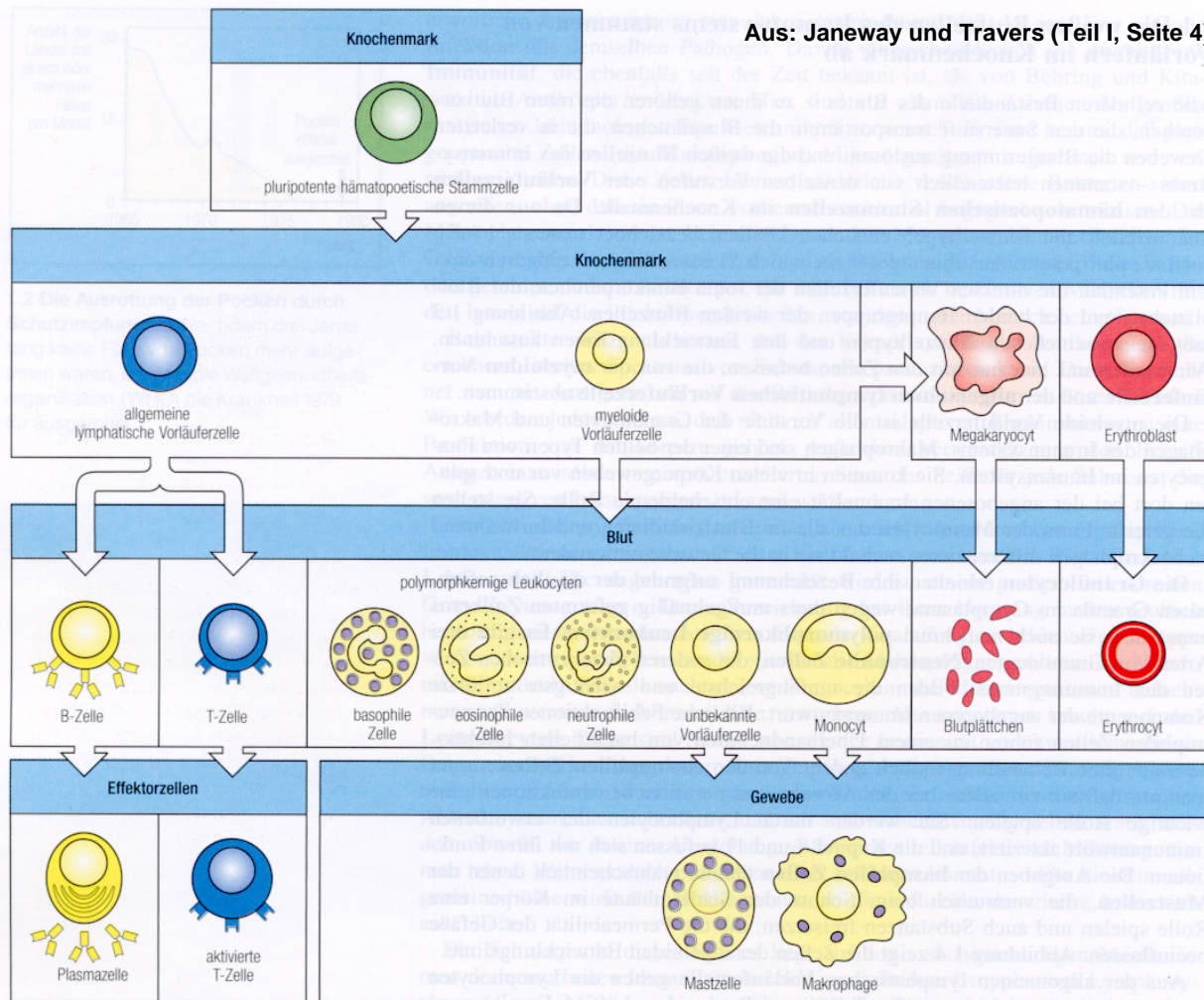
Wie finden Immunzellen Infektionsherde im Körper, wie gelangen sie in die infizierten Areale?

Welche wesentlichen Kommunikationsprozesse des Immunsystems laufen zwischen dem Eindringen von Viruspartikeln in den Körper bis zur Elimination von virusinfizierten Epithelzellen durch CTL ab?

Wie können Immunzellen Tumorzellen identifizieren und diese eliminieren?

Wie kann man in die Kommunikationsprozesse des Immunsystems eingreifen und dies zu therapeutischen Zwecken nutzen?

Immunzellen & Lymphorgane



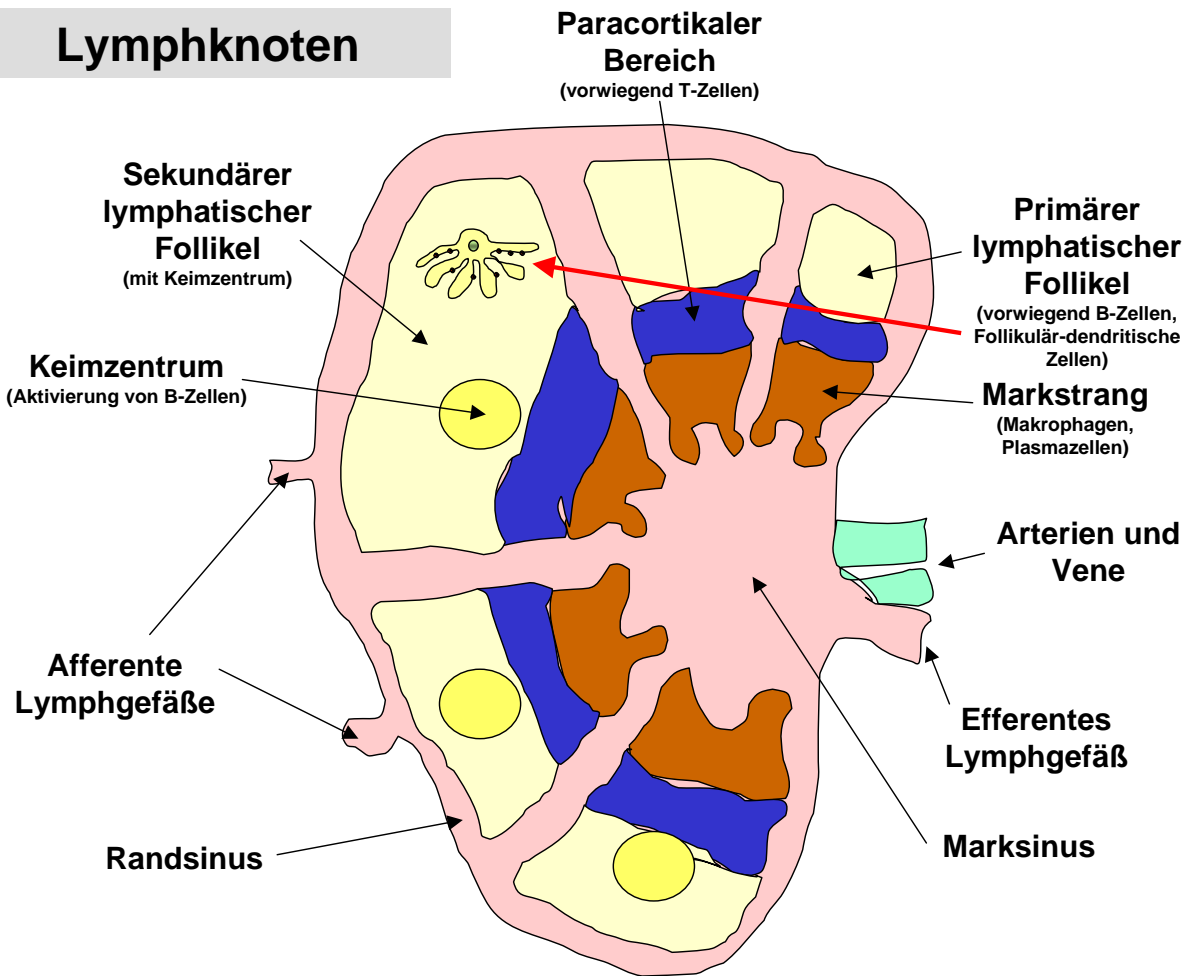
Das zelluläre Immunsystem setzt sich aus Leukozyten mit unterschiedlichen Aufgaben zusammen. So gibt es Phagozyten, wie Makrophagen und neutrophile Granulozyten, die eingedrungene Fremdkörper phagozytieren und damit unschädlich machen. Professionelle Antigenpräsentierende Zellen, wie dendritische Zellen und B-Lymphozyten, die eine adaptive Immunreaktion auslösen können. Plasmazellen sezernieren Antikörper um somit eingedrungene Pathogene unschädlich zu machen. Aktivierte T-Lymphozyten dienen dazu, durch intrazelluläre Pathogene befallene Zellen zu erkennen und zu eliminieren (cytotoxische T-Lymphozyten), Makrophagen zu aktivieren (T-Helfer-1-Zellen), die Antikörperproduktion von B-Zellen zu regulieren (T-Helfer-2-Zellen). Natürliche Killerzellen können Virus infizierte Zellen erkennen und eliminieren.

Granulozyten Lymphozyten und Makrophagen können anhand ihrer lichtmikroskopischen Charakteristika unterschieden werden. Durch Analyse der exprimierten Oberflächenmoleküle können die verschiedenen Zellen noch in weitere funktionelle Subpopulationen unterteilt werden.

Verschiedene Aufgaben können direkt durch angeborene Mechanismen des Immunsystems erfüllt werden, z.B. Phagozytose von eingedrungenen Bakterien durch Granulozyten oder Makrophagen. Das Auslösen einer adaptiven Immunantwort (z.B. die Aktivierung von cytotoxischen T-Lymphozyten) dagegen erfordert komplizierte Kommunikationsprozesse zwischen unterschiedlichen Subpopulationen von Immunzellen.

Ziel des Zusammenspiels ist, den Organismus vor Pathogenen zu schützen, aber gleichzeitig Schäden am Organismus zu vermeiden.

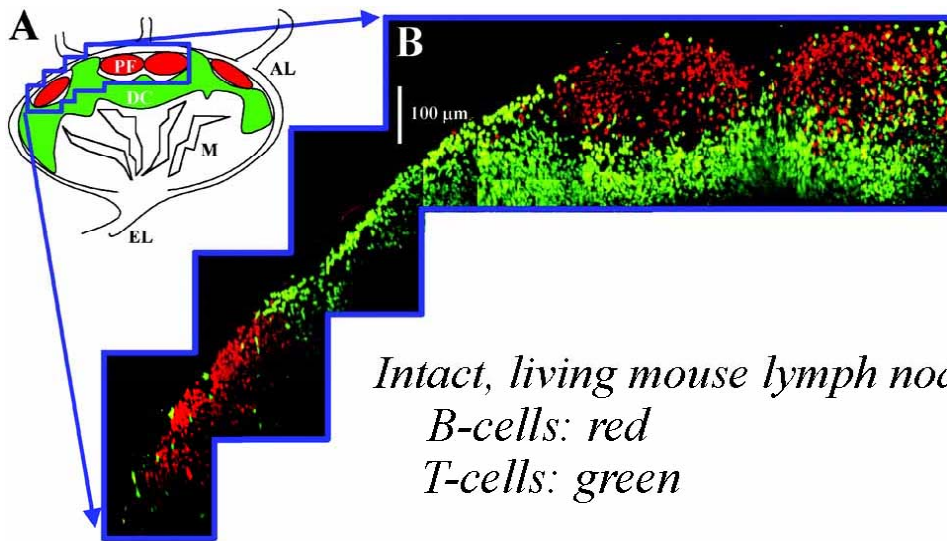
Lymphknoten



Lymphknoten, Milz, Tonsillen, GALT gehören zu den sekundären Lymphorganen. Die Aufgabe dieser Lymphorgane besteht darin, den Immunzellen einen Raum zur Interaktion zu geben. Durch die hohe Dichte an Immunzellen und die Bildung von funktionellen Kompartimenten besteht eine hohe Begegnungswahrscheinlichkeit für Antigenpräsentierende Zellen, die mit Antigen beladen sind und spezifische T-Lymphozyten. B-Lymphozyten treffen hier auf lösliche Antigene, die mit der Lymphe über die afferenten Lymphbahnen in den Lymphknoten gelangen. In den sekundären Lymphorganen erfolgt die Aktivierung, Proliferation und Differenzierung von B- und T-Lymphozyten. Die Effektorfunktion der Lymphozyten findet meist an anderen Orten des Körpers statt.

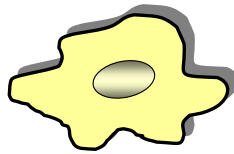
Thymus und Knochenmark zählen zu den primären Lymphorganen. In diesen läuft die Differenzierung von Vorläuferzellen zu T- bzw. B-Lymphozyten ab. Außerdem werden in den primären Lymphorganen die Lymphozyten aussortiert, die potentiell autoreaktiv werden könnten, um den Organismus vor Autoimmunreaktionen zu schützen.

Fluoreszenzmikroskopische Untersuchung eines Lymphknotens



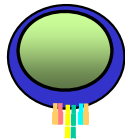
Kommunikation zw. Immunzellen
mittels Zytokine

Produktionsorte der Zytokine und Chemokine



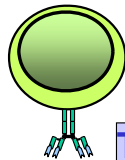
APZ

IFN- α , TNF- α , TGF- β , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, MCP-1, MIP-1, GM-CSF, M-CSF



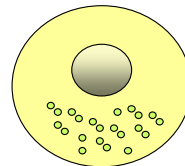
T-Zellen

IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IL-15, GM-CSF, IFN-g, TNF- β , MIP-1 β , RANTES, TGF- β



B-Zellen

TNF- β , MIP-1 β , IL-12



Mastzelle

IL-4, IL-5, CD40-Ligand

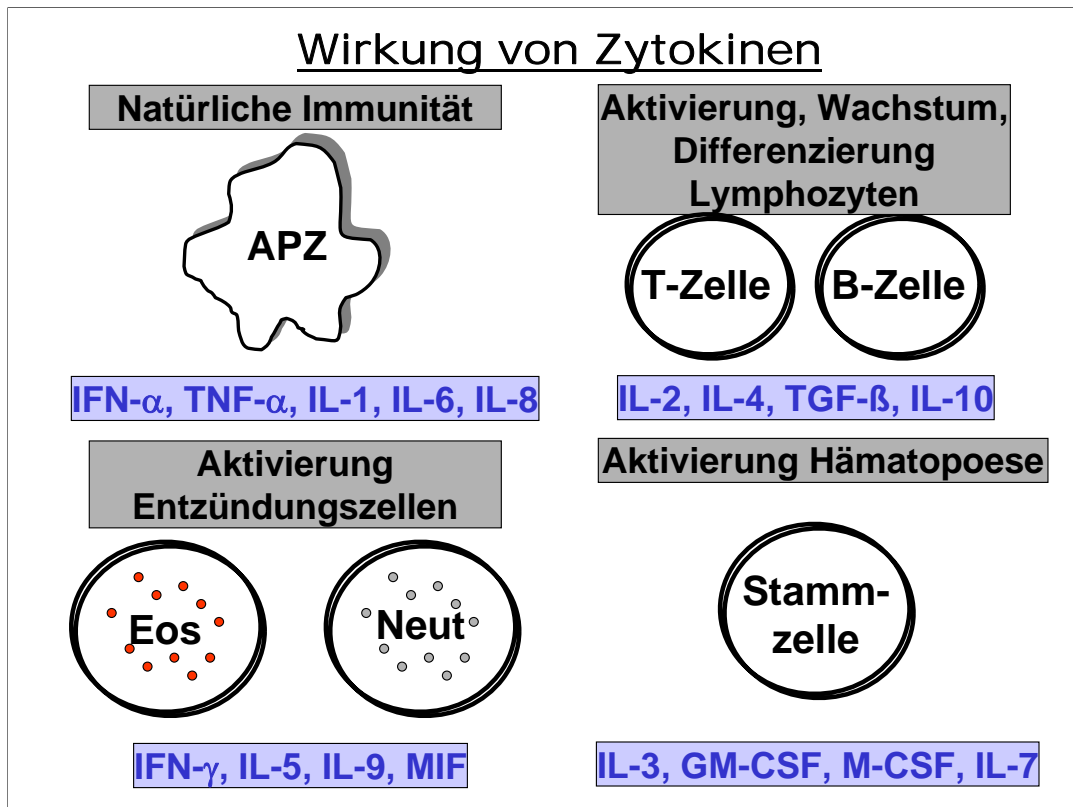
Zytokine sind kleine wasserlösliche Proteinmoleküle. Diese dienen hauptsächlich zur lokalen zellulären Kommunikation. Sie werden nach Aktivierung von Leukozyten durch spezifische Reize in meist lokal recht hohen Konzentrationen produziert. Sie wirken meistens nur eine geringe Zeit im direkten Umfeld der produzierenden Zelle, rezeptorvermittelt auf unterschiedliche Zellen. Allerdings gibt es auch Zytokine, die eine systemische (endokrine) Wirkung haben, so wird z.B. IL-1 lokal nach dem Eindringen von Bakterien gebildet, es wirkt aber systemisch mit der Bildung von Fieber.

Die Wirkung der Zytokine kann sowohl autokrin als auch parakrin sein. Autokrin wirkt zum Beispiel IL-2, das nach Aktivierung von antigenspezifischen T-Lymphozyten gebildet wird und deren eigene Proliferation fördert.

Parakrin wirkt z.B. IL-4, das von T-Helfer-Zellen gebildet wird, auf B-Lymphozyten wirkt und einen Switch der gebildeten Antikörperisotypen auslöst.

Chemokine (z.B. IL-8) sind kleine Zytokinmoleküle, diese bewirken die chemotaktische Anlockung von Lymphozyten und sorgen somit dafür, dass Lymphozyten dorthin finden, wo sie gebraucht werden.

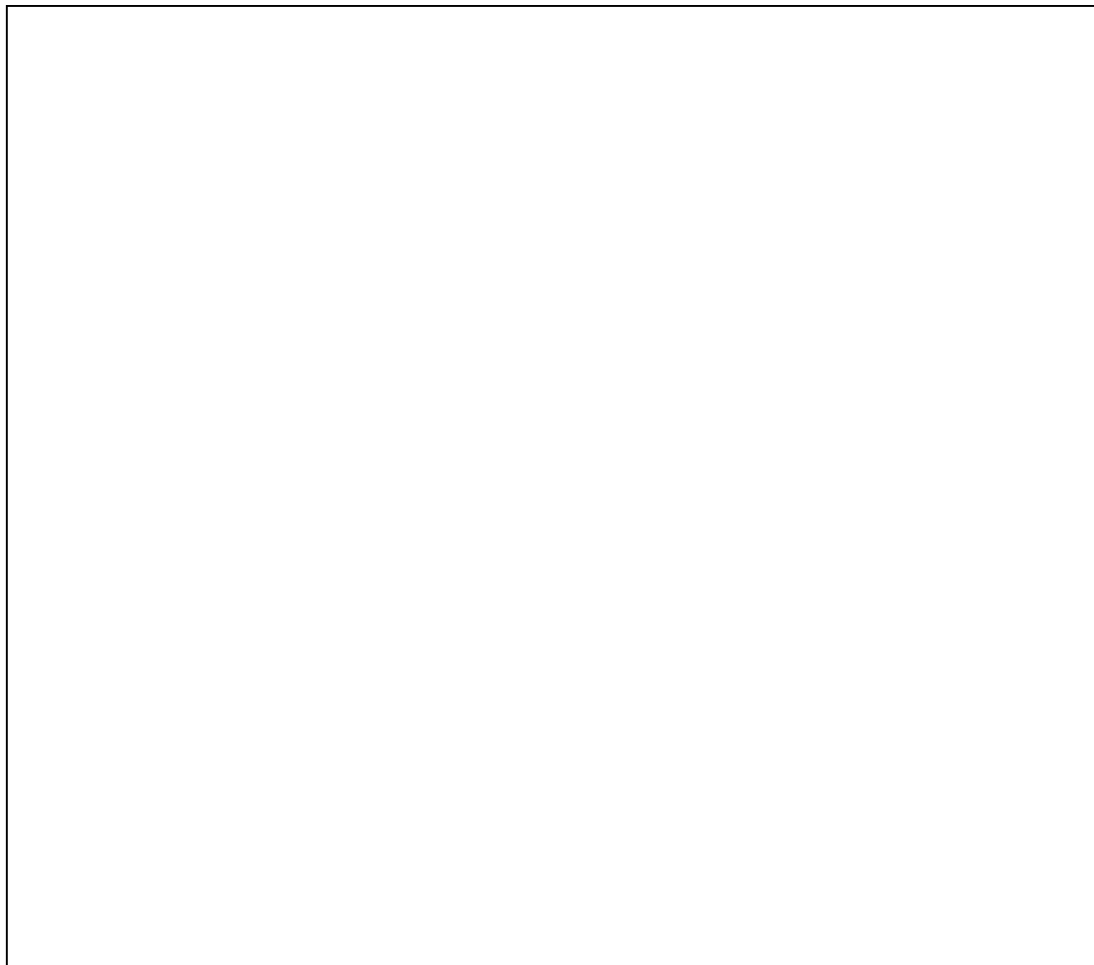
Wirkung von Zytokinen



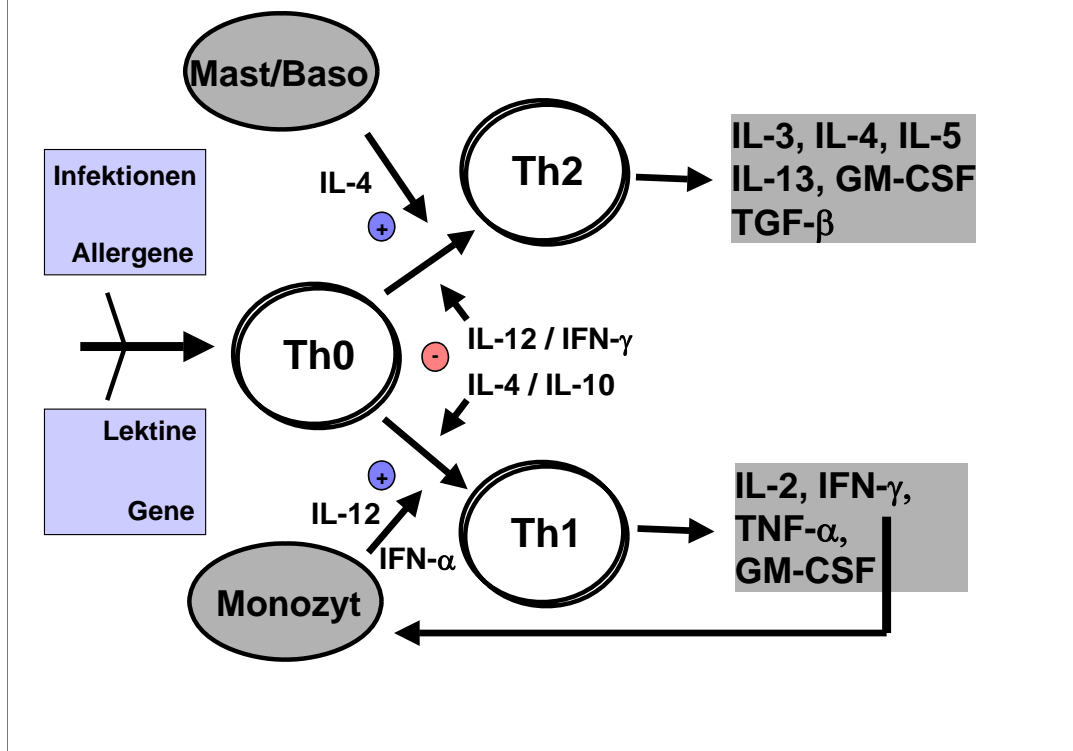
IL-1	=Fieber, T-Zell- und Makrophagenaktivierung
IL-2	=Wachstum von T-Zellen
IL-3	=Hämatopoiesis (Basophile)
IL-4	=Th2-Zellaktivierung, B-Zellaktivierung, IgE-Switch
IL-5	=Wachstum und Differenzierung von Eosinophilen
IL-6	=Induktion der Akute Phase Proteine, Fieber, Wachstum von T- und B-Zellen
IL-9	=Mastzellaktivierung
IL-10	=Hemmung Makrophagen und T-Zellen
IL-12	=Differenzierung Th1, Aktivierung NK-Zellen
IL-13	=B-Zellaktivierung, Hemmung Makrophagen
TNF- α	=lokale Entzündung
IFN- γ	=Makrophagenaktivierung, MHC-Expression hoch, antiviral
IFN- α/β	=antiviral, MHC I hoch, Th1

Cytokinrezeptoren gehören zu mehreren Familien von Rezeptorproteinen, die jeweils unterschiedliche Strukturen haben

Cytokinrezeptoren der Klasse I (Familie der Hämatopoetinrezeptoren)	Rezeptoren für Erythropoetin, Wachstumshormon und IL-3
	Rezeptoren für IL-3, IL-5 und GM-CSF haben eine gemeinsame Kette, CD131 oder β_c (gemeinsame β -Kette)
	Rezeptoren für IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 und IL-15 haben eine gemeinsame CD132- oder γ_c -Kette (gemeinsame γ -Kette); IL-2-Rezeptoren haben zudem eine dritte Kette, eine hochaffine IL-2R α -(CD25-) Unter-einheit
Cytokinrezeptoren der Klasse II	Interferon- α , - β - und - γ -Rezeptoren, IL-10-Rezeptor
Familie der TNF-Rezeptoren	Rezeptoren I und II für den Tumornekrosefaktor (TNF); CD40, Fas (Apo1), CD30, CD27, Rezeptor für den Nervenwachstumsfaktor
Familie der Chemokinrezeptoren	CCR1-5, CXCR1-4



Kommunikation mit Zytokinen während einer Immunantwort



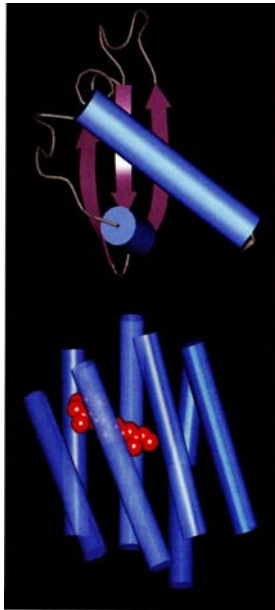
Bei der Entscheidung, ob T-Helfer-Lymphozyten zu Th1 oder Th2 Zellen differenzieren, spielen Zytokine eine wichtige Rolle. Th1 Lymphozyten dienen z.B. dazu Makrophagen zu aktivieren intrazelluläre Bakterien abzutöten. So ist es sinnvoll, dass in Anwesenheit von Bakterien T-Lymphozyten zu Th1 Zellen und nicht zu Th2 Zellen differenzieren. Tatsächlich aktivieren bakterielle Substanzen wie Endotoxine Monozyten, die daraufhin IL-12 produzieren. Die Anwesenheit von IL-12 lässt Th0- zu Th1 Zellen differenzieren. Th1 Zellen produzieren daraufhin IFN-gamma, was dazu führt, dass die Makrophagen ihre Effektorfunktion erfüllen können.

Th2 T-Lymphozyten entstehen dagegen in Abwesenheit von IL-12 und in Anwesenheit von IL-4. Th2-Zellen produzieren IL-4 und IL-5 und führen somit nach Interaktion mit B-Lymphozyten zum Switch der produzierten Antikörperklasse und zur Aktivierung von eosinophilen Granulozyten.

Häufig löst ein äußerer Reiz (z.B. Bakterium) ein Netzwerk von produzierten Zytokinen aus. Das heißt, die durch die Anwesenheit von Bakterien produzierten Zytokine wirken auf andere Leukozyten, die daraufhin mit der Produktion von weiteren Zytokinen reagieren.

**Kommunikation zw. Immunzellen
mittels Chemokine**

Chemokine sind eine Familie von Proteinen mit ähnlichen Strukturen, die an Chemokinrezeptoren binden, die zur großen Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren gehören



- alle Chemokine besitzen ähnliche Aminosäuresequenzen und ihre Rezeptoren sind sämtlich integrale Membranproteine mit sieben membrandurchspannenden Helices.

Einteilung in zwei große Gruppen:

C-C – Chemokine $\xrightarrow[\text{an}]{\text{binden}}$ CCR (1-9)

z.B. MCP-1 (spez. Monozyten)

C-X-C – Chemokine $\xrightarrow[\text{an}]{\text{binden}}$ CXCR (1-5)

z.B. IL-8 (spez. Neutrophile)

IL-8 und MCP-1 besitzen ähnliche, allerdings komplementäre Funktionen

- IL-8 veranlasst PMN, den Blutkreislauf zu verlassen und in das umgebende Gewebe einzuwandern

- MCP-1 dagegen wirkt auf Monozyten und beeinflusst ihre Wanderung aus den Gefäßen und damit ihre Entwicklung zu Gewebsmakrophagen

auch fMLP (bakterielles Peptid) = Chemokin für Neutrophile

(C=Cystein)

IL-8	=CXC – Monozyten, Makrophagen, Fibroblasten, Keratinozyten – locken naive T-Zellen und Granulozyten an
NAP-2	=CXC – Blutplättchen, – locken Neutrophile an, Induktion von Degranulation
MIP1-b	=CC – Monozyten, Makrophagen, Neutrophile, Endothel – locken CD8- T-Zellen an
MCP1	=CC – Monocyten Makrophagen, Fibroblasten, Keratinozyten, – locken Gedächtniszellen an
Rantes	=CC – T-Zellen – locken CD4-Gedächtniszellen an
Lymphotaktin	=C – Stroma des Thymus, einige T-Zellen – locken T-Zell-Vorläufer in Richtung Thymus
Eotaxin	=C – Th2-Zellen – locken Eosinophile an

Die Wanderung von DCs wird durch Chemokine dirigiert

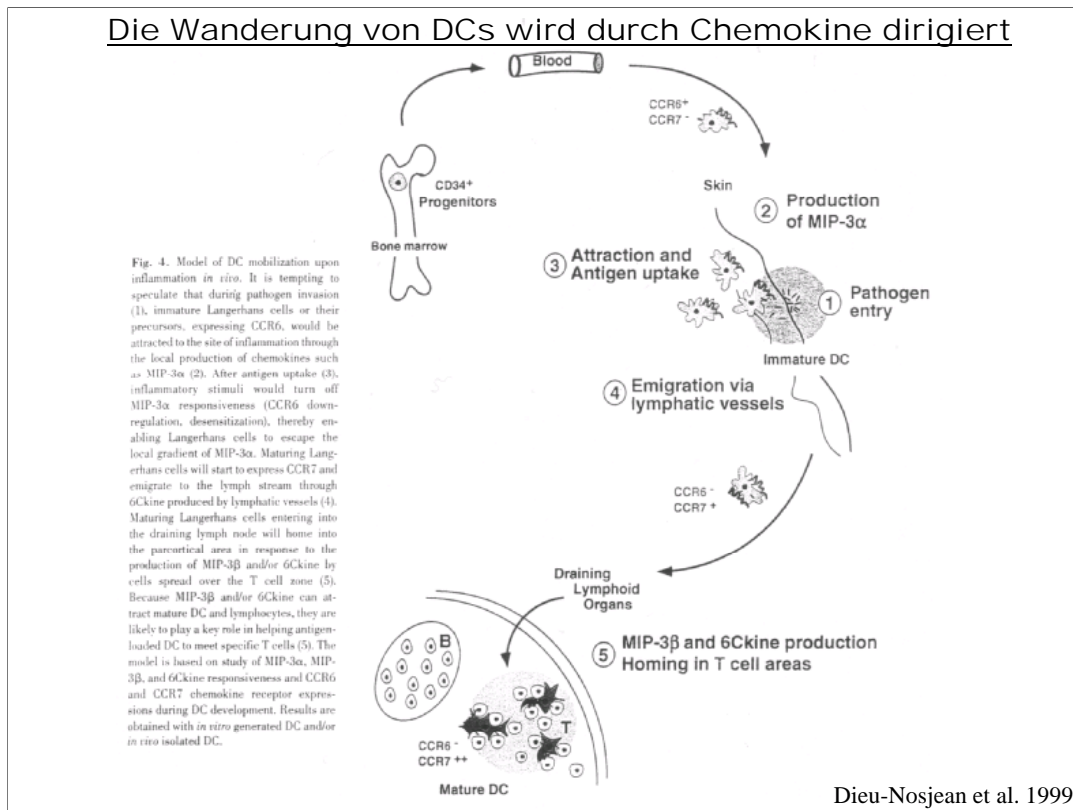


Fig. 4. Model of DC mobilization upon inflammation *in vivo*. It is tempting to speculate that during pathogen invasion (1), immature Langerhans cells or their precursors, expressing CCR6, would be attracted to the site of inflammation through the local production of chemokines such as MIP-3α (2). After antigen uptake (3), inflammatory stimuli would turn off MIP-3α responsiveness (CCR6 down-regulation, desensitization), thereby enabling Langerhans cells to escape the local gradient of MIP-3α. Maturing Langerhans cells will start to express CCR7 and emigrate to the lymph stream through 6Ckine produced by lymphatic vessels (4). Maturing Langerhans cells entering into the draining lymph node will home into the paracortical area in response to the production of MIP-3β and/or 6Ckine by cells spread over the T cell zone (5). Because MIP-3β and/or 6Ckine can attract mature DC and lymphocytes, they are likely to play a key role in helping antigen-loaded DC to meet specific T cells (5). The model is based on study of MIP-3α, MIP-3β, and 6Ckine responsiveness and CCR6 and CCR7 chemokine receptor expressions during DC development. Results are obtained with *in vitro* generated DC and/or *in vivo* isolated DC.

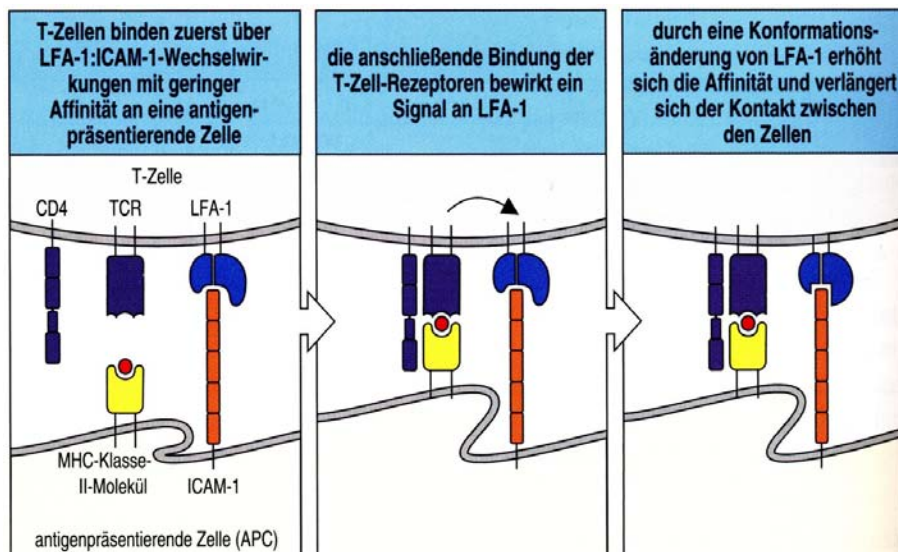
Dieu-Nosjean et al. 1999

Modell für die Wanderung von dendritischen Zellen *in vivo*:

Als Reaktion auf eine lokale Infektion wird das Chemokin MIP-3a gebildet. Dendritische Zellen aus dem Blut werden durch den Chemokin-Gradienten zum Ort der Infektion dirigiert und nehmen dort Antigene auf. Nach Antigenaufnahme wird CCR6 (MIP-3a Rezeptor) runterreguliert. Hierdurch reagieren DC nicht mehr auf MIP-3a und beginnen ihre Wanderung durch Lymphgefäße zu den drainierenden Lymphknoten. Während der Wanderung reifen die dendritischen Zellen heran, beginnen T-Zell stimulatorische Moleküle und CCR7 zu exprimieren. Im Paracortex des Lymphknotens werden die Chemokine MIP-3b und 6Ckine produziert, welche von CCR7 auf den DCs gebunden werden. Die dendritischen Zellen folgen diesem Gradienten und gelangen so in die T-Zell Areale des Lymphknotens.

**Kommunikation zw. Immunzellen
mittels Oberflächenmolekülen**

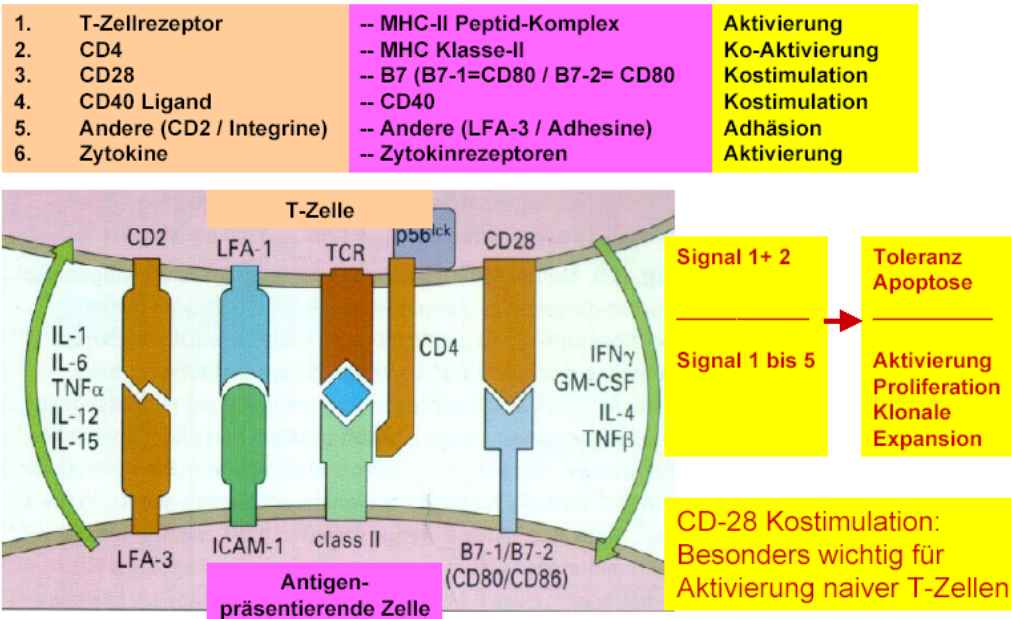
Stabilisierung der Verbindung zwischen T-Zelle und APC durch spez. Antigenerkennung



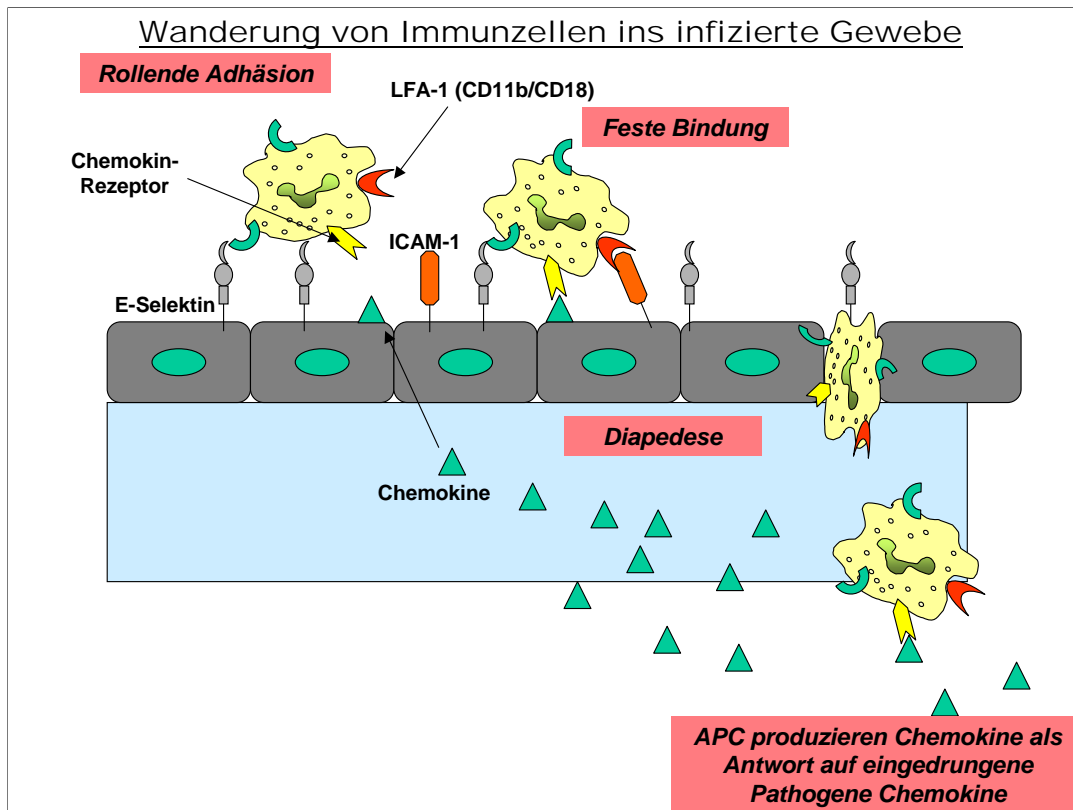
LFA-1 = lymphocyte function-associated antigen-1;

Die Zellen des Immunsystems kommunizieren nicht nur durch lösliche Mediatoren sondern auch durch Oberflächenrezeptoren. Die Interaktion von Oberflächenmolekülen kann unterschiedliche Funktionen haben. So dienen Adhesine dazu dichten Zell-Zell-Kontakt zwischen kommunizierenden Leukozyten herzustellen.

MHC-II - CD4 T-Helfer Interaktion Kostimulation (naive T-Zellen)



Durch die Wechselwirkung zwischen MHC-Peptid-Komplex und dem T-Zell-Rezeptor überprüfen Lymphozyten, ob potentiell schädliche Antigene in den Körper eingedrungen sind und eine Immunreaktion ausgelöst werden muss. An der Interaktion zwischen den Zellen sind noch zahlreiche andere Oberflächenmoleküle beteiligt. So ist an der Interaktion von T-Helfer-Lymphozyten und APZ neben der Bindung von MHCII-Peptid-Komplex und TCR auch die Bindung von CD4 an MHCII beteiligt. Außerdem braucht es um die T-Zelle zu aktivieren noch die Interaktion von CD80/86 mit CD28 auf der APZ. Die Interaktionen dieser weiteren Oberflächenmoleküle dienen dazu, das Signal, das die T-Zelle durch den TCR erhält zu potenzieren und somit die Aktivierung der Zelle zu ermöglichen. Fehlen die zusätzlichen Signale wird die T-Zelle anergisch.

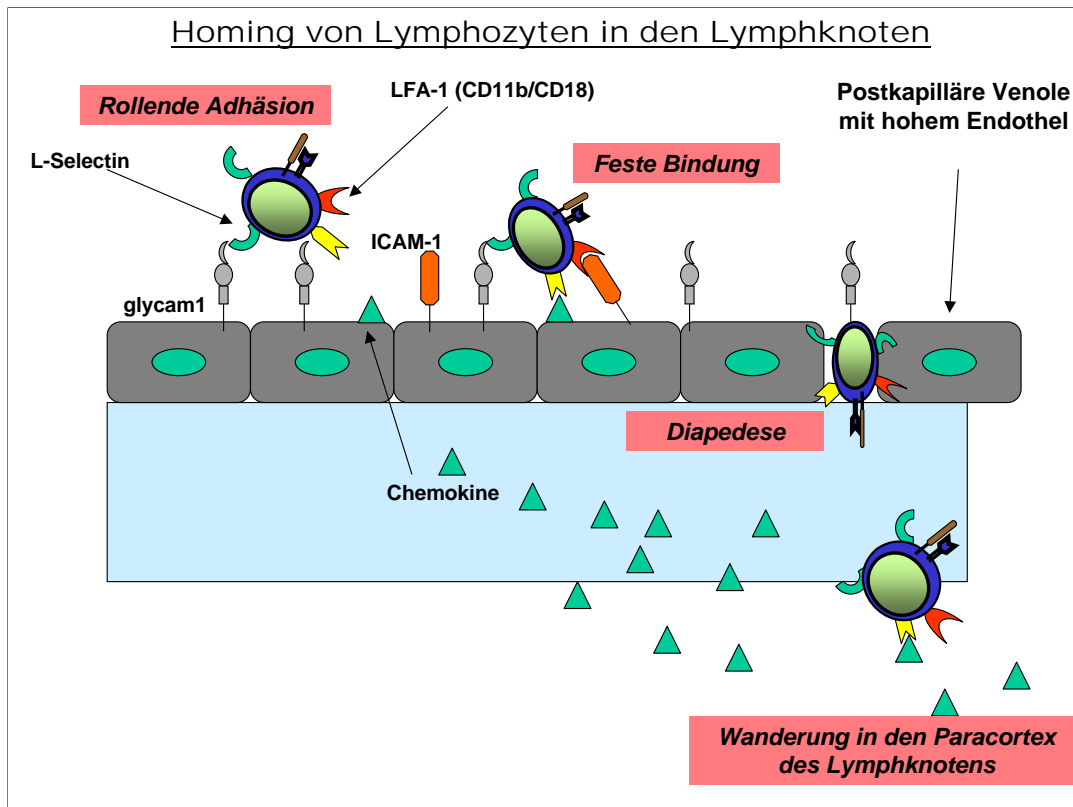


Bei der Wanderung von Leukozyten durch den Körper spielen sowohl Zytokine als auch zahlreiche Oberflächenmoleküle eine wichtige Rolle. Durch diese Kommunikationsprozesse werden Leukozyten z.B. zum Ort der Infektion dirigiert. Im ersten Schritt führt die Bindung von Oberflächenmoleküle auf den Leukozyten an E-selektin von Endothelzellen zum Entlangrollen der Leukozyten am Gefäßendothel mit dem Blutstrom. Auf Endothelzellen in entzündeten Gewebearealen ist das Adhäsionsmolekül ICAM-1 hochreguliert, was zu einer festen Bindung der Leukozyten über LFA-1 an die Endothelzellen führt. Mithilfe von proteolytischen Enzymen dringen die Phagozyten ins Gewebe ein und folgen dem Chemokingradienten, gelangen somit zum Ort der Inflammation.

Insgesamt gibt es drei Familien von Adhäsionsmolekülen:

Selektine → sind für die Wechselwirkungen zwischen Endothel und Leukozyten verantwortlich (relativ locker)

ICAM (interzelluläre Adhäsionsmoleküle) → festere Adhäsion auf dem Endothel und binden an **Integrine** auf den Leukozyten



Diapedese in lymphatischem Gewebe:

Lymphozyten betreten lymphatisches Gewebe durch Venolen mit hohem Endothel (**HEV**). 'Unerfahrene' Lymphozyten (T und B) tun dies beliebig, 'erfahrene' hingegen konzentrieren sich auf Orte, wo sie 'ihr' Antigen schon frueher gefunden (praesentiert bekommen) haben ('homing') und dabei zu 'erfahrenen' Lymphozyten geworden sind.

'Unerfahrene' T-Zellen exprimieren L-Selektin, welches das cell-adhesion molecule GlyCAM-1 bindet. GlyCAM-1 wird vom HEV-Endothel aller sekundaeren lymphatischen Gewebe (z.B. Lymphknoten) exprimiert. Auf diese Weise besuchen 'unerfahrene' TC mittels ihres L-Selektin beliebige sekundaere lymphatische Organe und deren APC. Bleiben sie unaktiviert, wiederholen sie ihren Streifzug durch den Koerper (eine Rezirkulation durch Kreislauf und Lymphsystem dauert 12-24 Stunden).

Findet eine T-Zelle hingegen 'ihr' Antigen auf einer APC, wird sie aktiviert und zur 'erfahrenen' ('reifen') T-Zelle. Sie stattet sich jetzt mit Adhaesionsmolekuelen aus, die ihr vorzugsweise Zugang zum Gewebe verschaffen (die Expression anderer Adhaesionsmolekuele wird heruntergefahren).