

Christoph Dufter
Dr. med.

Induktion peripherer Toleranz gegen ein Herztransplantat durch selektive Ausschaltung von α/β^+ T-Zellen in der Ratte

Geboren am 28.01.1964 in Siegsdorf
Reifeprüfung am 29.06.1983 Traunstein
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1984 bis SS 1991
Physikum am 26.08.1986 an der Technischen Universität München
Klinisches Studium im Klinikum Rechts der Isar der Technischen Universität München
Praktisches Jahr im Klinikum Rechts der Isar der Technischen Universität München
Staatsexamen am 02.05.1991 an der Technischen Universität München

Promotionsfach: Immunologie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. P. Terneß

Der Großteil der bislang in der klinischen Organtransplantation angewandten Immunsuppressiva führt zu einer unspezifischen Immunsuppression. Damit sind ernsthafte Nebenwirkungen wie eine erhöhte Anfälligkeit für Infektionen und eine Zunahme der Inzidenz maligner Erkrankungen verbunden. Es ist darum wünschenswert, Therapeutika einzusetzen, die eine Immuntoleranz induzieren und damit spezifisch alle für die Abstoßung verantwortlichen Zellen ausschalten, während auf der anderen Seite die natürliche Abwehrbereitschaft nicht beeinträchtigt wird.

Monoklonale Antikörper, die an den T-Zell-Rezeptor oder anderen an der T-Zellaktivierung beteiligten Strukturen binden, sind dafür geeignete Moleküle.

Das Ziel unserer Untersuchungen war es, die Wirkung des monoklonalen Mausantikörpers R73 auf das Transplantatüberleben eines heterotopen Herztransplantates in der Ratte zu untersuchen und seine immunologische Wirkungsweise gegenüber einer Toleranzinduktion näher zu charakterisieren.

Der Mausantikörper R73 bindet an eine konstante Region der β -Kette des α/β T-Zell-Rezeptors der Ratte und greift damit an einer zentralen Stelle der Antigenerkennung und Transplantatabstoßung an. Eine einmalige Gabe von 1 mg R73 führt zu einer selektiven Eliminierung aller α/β^+ T-Zellen aus dem peripheren Blut innerhalb einer Stunde. Diese Elimination erklärt sich durch eine Sequestrierung der T-Zellen in zentralen Organsystemen. Sie beruht nicht auf einer Komplement-induzierten Lyse der mit R73 beladenen T-Zellen. Bereits 1 Tag nach der ersten Gabe von R73 sind ca. 50% der T-Zellen wieder im peripheren Blut nachweisbar. Die Bestimmung der Expression des α/β TCR, CD3- und CD5-Antigens auf der Zelloberfläche zeigt, daß zu diesem Zeitpunkt eine Modulation des TCR/CD3-Komplexes vorherrscht, so daß die beiden Antigene nicht mehr auf der Zelloberfläche detektiert werden können. Drei Tage nach Behandlungsbeginn kann ein stetiger Anstieg der Expression von α/β TCR und CD3 gemessen werden, der nach weiteren 5 Tagen die Ausgangswerte vor Behandlungsbeginn erreicht. Das Pan-T-Zell-Antigen CD5 bleibt von der R73-Therapie unbeeinträchtigt und wird über den gesamten Behandlungszeitraum mit unveränderter Dichte exprimiert.

Eine perioperative Kurzzeitbehandlung mit R73 ohne zusätzliche Immunsuppression führt zu einer dramatischen Verlängerung der Überlebenszeit eines heterotopen Herztransplantates. Unsere Ergebnisse zeigen dabei eine stärkere Empfänglichkeit jüngerer Tiere, bei denen eine Toleranzinduktion mit unbegrenztem Transplantatüberleben in 44% der Fälle zu verzeichnen ist. Die biologische Wirksamkeit von R73 wird durch das Auftreten von funktionell blockierenden Anti-R73-Antikörpern innerhalb der ersten Woche nach Behandlungsbeginn verkürzt.

Die molekularbiologische Bestimmung der Zytokinproduktion in den Herztransplantaten bei Tieren während einer akuten Abstoßung, unter R73-Behandlung oder bei toleranten Tieren ergibt keine präferentielle T-Helfer-1- oder T-Helfer-2-Zytokinaktivität. Obwohl die Herztransplantate bei bestimmten R73-Therapieschemata unbefristet toleriert werden, verlieren die Empfängertiere Hauttransplantate desselben Spenders oder eines unverwandten Drittsponders innerhalb von 11 Tagen. Gleichmaßen kann keine verminderte Stimulierbarkeit gegenüber Spendermilzzellen in der gemischten Lymphozytenkultur nachgewiesen werden. Diese Befunde deuten auf das Vorliegen einer peripheren, organspezifischen Toleranz hin. Eine mögliche Erklärung dieser begrenzten Toleranz liegt darin, daß R73 nur die gegen das Herztransplantat gerichteten, aktivierten T-Zellen, nicht aber ruhende Lymphozyten ausschaltet. Unsere Untersuchungen zeigen, daß der Zeitpunkt des Beginns der R73-Therapie ein entscheidendes Kriterium für die Wirksamkeit von R73 darstellt.

Eine postoperative Anwendung von R73, die entweder zeitgleich mit der Transplantation durchgeführt wird bzw. 4 Tage nach der Transplantation zur Unterdrückung akuter Abstoßungsreaktionen einsetzt, verlängert die Überlebenszeit nur geringfügig.

Eine chronische Behandlung mit R73 läßt einen besonderen Einblick auf die Bedeutung der α/β^+ T Zellen und γ/δ^+ T Zellen auf die Abstoßungsreaktion zu. Eine R73-Behandlung von Geburt an führt zu einer selektiven Eliminierung aller α/β^+ T-Zellen über den gesamten Behandlungszeitraum hinweg. Es treten dabei keine Anti-R73-Antikörper auf. Die γ/δ^+ T-Zellen werden von dieser Behandlung dagegen nicht betroffen. Bei diesen α/β -depletierten, γ/δ^+ Versuchstieren tritt kein Transplantatverlust auf. Diese Situation zeigt, daß in unserem Tiermodell die γ/δ^+ T-Zellen allein nicht in der Lage sind, eine Abstoßungsreaktion einzuleiten. Nach Absetzen der Therapie kommt es zu einem langsamen Auftreten von α/β^+ T-Zellen und damit im weiteren Verlauf zu ersten Abstoßungsreaktionen.

Alle Versuchstiere tolerieren eine kurzzeitige R73-Behandlung ohne augenscheinliche Nebenwirkungen. Bei der chronischen Anwendung kommt es dagegen zu einer Milzatrophy.

Die selektive Ausschaltung α/β^+ T-Zellen durch die Behandlung mit dem monoklonalen Anti-TCR-Antikörper R73 führt zu einer langdauernden Verlängerung der Überlebenszeit eines heterotopen Herztransplantates in einem stark inkompatiblen Rattensystem. Es stellt damit ein experimentelles Modell zur Untersuchung der Rolle von α/β^+ und γ/δ^+ T-Zellen auf die Abstoßungsreaktion dar. Obwohl der untersuchte Antikörper gegen eine konstante Domäne des α/β TCR gerichtet ist und somit alle T-Zellen erkennt, induziert er eine organspezifische Toleranz. Dies zeigt, daß selbst mit einem breit reagierenden T-Zell-Antikörper eine gezielte Immunsuppression erreicht werden kann.

Die Charakterisierung von R73 liefert damit als Modellsystem einen wichtigen Beitrag zur Untersuchung von Mechanismen, die zur Induktion einer organspezifischen, peripheren Toleranz führen.