

Richard Taubert
Dr. med.

Quantitative Analyse promiskuöser Genexpression im humanen Thymus: Implikationen für Toleranz und Autoimmunität

Geboren am 03. Juli 1980 in Halle (Saale)
(Staats-)Examen am 13.11.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Immunologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. B. Kyewski

In dieser Arbeit wurde die promiskuöse Genexpression im Thymusepithel des Menschen mittels Echtzeit-RT-PCR und immunhistologischer Methoden auf der Ebene der mRNA und der Proteine untersucht.

Nach relevanter Erhöhung der Reproduzierbarkeit der Echtzeit-PCR konnten in den mTEZ von 26 Individuen 7- bis 263fache interindividuelle Variationen in der Expressionshöhe von 8 gewebespezifischen Autoantigenen, bspw. Insulin und nAChR α , und des Transkriptionsfaktors Aire zuverlässig detektiert werden. In den mTEZ korrelierte die Expressionshöhe der Antigene mit hohen Variationen (über Faktor 20) mit der von Aire (Faktor 146), während Antigene mit geringen Variationen (Faktor 10 oder kleiner) Aire-unabhängig schwankten.

Hilfe zum Verständnis der Bedeutung derartig großer Variationen liefern die Korrelationen zwischen den Expressionshöhen von Insulin und nAChR α mit krankheitsassoziierten Polymorphismen (VNTR für Diabetes mellitus Typ I; SNP 11 für Myasthenia gravis) in den regulatorischen Sequenzen der beiden Antigengenloki. Dabei ist das zu Autoimmunität disponierende Allel mit einer 2fach geringeren mittleren Antigenexpressionshöhe im Thymus assoziiert. Ferner legen die Daten dieser Arbeit nahe, dass diese cis-regulierenden Elemente (der VNTR-Lokus und der Einzelnukleotidpolymorphismus SNP 11) die promiskuöse Antigenexpression Aire-abhängig modulieren, sodass die individuelle Aire-Dosis für die Antigenexpressionshöhe im Thymus von größerer Bedeutung ist als der Genotyp des Antigenlokus.

Die Sensitivität der Selbsttoleranz gegenüber der Autoantigenexpressionshöhe im Thymus ist vor dem Hintergrund variabler Expressionsstärken auch von Tumorantigenen, hier gezeigt am Beispiel von CEA5, für die körpereigene Abwehr von Malignomen wahrscheinlich von Bedeutung und für die immunologische Tumorthherapie von großem Interesse.

Es konnte gezeigt werden, dass bei homogenem genetischem Hintergrund in Inzestmäusen die interindividuellen Variationen in den mTEZ auf 2- bis 4fache Schwankungen zurückgehen. Diese Daten aus der Maus lassen in Anbetracht der Koregulation der Antigenexpression durch cis-regulierende Elemente und durch Aire auf eine polygene Regulation der promiskuösen Genexpression schließen.

Die aus der Maus bekannte Heterogenität der mTEZ wurde durch immunhistologische Untersuchungen auch für den Menschen belegt. Dabei konnte ein auf periphere Gewebe beschränktes Antigen (bspw. Insulin oder Haarkeratine) auf Proteinebene jeweils nur in 1-3 % der mTEZ nachgewiesen werden. Diese promiskuöse Proteinexpression konnte aufgrund ihrer geringeren Frequenz deutlich von der Expression epithelialer Strukturantigene, hier v. a.

Zytokeratine (bspw. CK5 und CK10), unterschieden werden. In Anbetracht der Parallelen in der Sequenz der Keratinexpression zwischen der Haut und der Thymusmedulla spiegeln Unterschiede in der Frequenz (4-100 %) ubiquitärer Zytokeratine in isolierten mTEZ wahrscheinlich verschiedene Reifungsstadien innerhalb des dreidimensionalen Thymusepithelnetzwerks mit den Hassallschen Korpuskel als Kondensationen der reifsten mTEZ wider.

Die hier gewonnenen Erkenntnisse über die Autoantigenexpression im humanen Thymus belegen, mit Abweichungen der Expressionsmuster weniger Antigene, eine erstaunlich hohe Konservierung der Mechanismen promiskuöser Genexpression zwischen Mensch und Maus. Es ist daher zu vermuten, dass es sich bei der promiskuösen Autoantigenexpression um ein essentielles Element des adaptiven Immunsystems handelt. Selbst eine partielle Einschränkung dieser Genexpression geht, wie beim autoimmunen polyglandulären Syndrom, mit einer hohen Morbidität und Mortalität einher.