

1. Einleitung

1.1 Das Gehirn

Die Anatomie des Gehirns und die Arbeitsweise der Neuronen sind heute weitgehend erforscht. Das Phänomen des „Bewusstseins“ ist jedoch noch immer ungeklärt. Die Komplexität der Millionen von Neuronen und der unendlich erscheinenden Anzahl von synaptischen Verbindungen scheint ein Verständnis der genauen Abläufe in immer weitere Ferne zu rücken. Einige Forscher gehen heute davon aus, dass es der Menschheit nie gelingen wird dieses große Rätsel zu lösen.

Das Gehirn entwickelt sich aus dem Ektoderm. Bereits früh in der Entwicklung bildet sich die Neuralfalte, die sich weiter aufwirft und sich schließlich als Neuralrohr vom Rest des Ektoderms trennt. Aus diesem röhrenförmigen Gebilde geht das gesamte Nervensystem hervor.

Das Nervensystem wird in verschiedene Teile unterteilt: das periphere, das autonome und das zentrale Nervensystem (ZNS).

Während der periphere Teil die Bewegungen des Körpers ermöglicht, übernimmt der autonome Teil homeostatische Funktionen. Seine beiden Teile Sympathikus und Parasympathikus übernehmen entgegengesetzte Funktionen. Sie können den Körper dahingehend beeinflussen, dass er regenerative Funktionen ausführt oder aber ihn auf Kampf und Flucht vorbereiten. Da sich das autonome Nervensystem der willentlichen Beeinflussung weitestgehend entzieht, scheint der moderne Mensch manchmal Reaktionen ausgeliefert zu sein, die in seinem Umfeld nur wenig Sinn machen.

Den wohl prominentesten Teil des ZNS stellt das Gehirn dar. Bei der Aufsicht auf das menschliche Gehirn lässt sich der Kortex erkennen. Tiefer liegende Teile können in Mesen-, Meten-, Myelen-, Dien-, und Telencephalon unterteilt werden. Diese Unterteilung spiegelt die embryonale Entwicklung wider. Den evolutiv ältesten Teil stellt das Stammhirn dar. In ihm sind viele der lebenswichtigen Funktionen des Organismus lokalisiert. Diese Funktionen laufen zum größten Teil autonom ab und können nicht willentlich beeinflusst werden.

Makroskopisch betrachtet, besteht das Gehirn aus zwei Hemisphären, die über den Balken miteinander verbunden und so zur Kommunikation fähig sind. Überraschenderweise scheinen die beiden Hemisphären zwar gewisse Präferenzen bei der Verarbeitung von Daten zu besitzen, trotzdem können beide auch unabhängig voneinander funktionieren.

Das Gehirn ist in den Meningen eingeschlossen und erscheint von außen als kompaktes Organ. Doch schon ein einfacher Schnitt in das Gewebe zeigt, dass sich graue und weiße Anteile unterscheiden lassen. Die graue und weiße Färbung des neuronalen Gewebes kommt dadurch zustande, dass Kompartimente der Neuronen unterschiedlich verteilt sind. Im grauen Teil befinden sich vermehrt die Somata und Dendriten der Neuronen. Im weißen Teil hingegen befinden sich vor allem Axone, die aufgrund der Myelinisierung (hohe Lipiddichte) weiß erscheinen. Hier zeigt sich bereits mit bloßem Auge, dass das Gehirn nicht nur aus Neuronen, sondern auch aus andere Zelltypen besteht.

Das Gehirn weist löchrige Strukturen auf. Dabei handelt es sich um die sogenannten Ventrikel: flüssigkeitsgefüllte Strukturen, die als System bis in den Zentralkanal des Rückenmarks verlaufen. Die Ventrikel und der Zentralkanal sind mit der sogenannte Cerebrospinalflüssigkeit gefüllt, die in manchen Fällen zur Diagnose verwendet werden kann. Sie kann Proteine, Zellen oder Pathogene enthalten, die es ermöglichen, Erkrankungen des ZNS zu diagnostizieren.

Auch wenn es im Gehirn ständig zur Bildung neuer Assoziationen kommt, so ist dieses Gewebe doch sehr „starr“. Die Anzahl der Neuronen nimmt schon relativ früh nach der Geburt nicht mehr weiter zu, sondern bleibt nach einem massiven Absterben relativ konstant. Es konnten zwar Stammzellen (van Praag et al., 2002) identifiziert werden, die auch Neuronen bilden. Diese Entdeckung wurde allerdings stark relativiert. Dies bedeutet für den Organismus, dass eine Schädigung des Gehirns katastrophale Folgen haben kann. Deutlich wird dies bei Opfern von Schlaganfällen oder anderen neurodegenerativen Erkrankungen, wie Morbus Alzheimer, Parkinson oder Multipler Sklerose. Bis zu einem gewissen Grad besitzt das Gehirn die Fähigkeit ausgefallene Funktionen wieder herzustellen. Allerdings geschieht dies nicht durch das neue Wachstum von Neuronen. Durch eine Änderung der Verschaltungsmuster übernehmen andere Gehirnteile die Aufgaben der ausgefallenen Bereiche. Diese Verschiebung funktioneller Bereiche kann auch unter normalen Umständen beobachtet werden, wie die von Clark et al. (1988) durchgeführten und andere Experimente elegant dokumentieren.

1.1.1 Die Zellen des Nervensystems

1.1.1.1 Neuronen

Die zellulären Funktionsträger des Nervensystems sind die Neuronen. Aufgrund ihrer Aufgaben können verschiedene Kompartimente innerhalb eines Neurons unterschieden werden. Diese sind hier schematisch dargestellt:

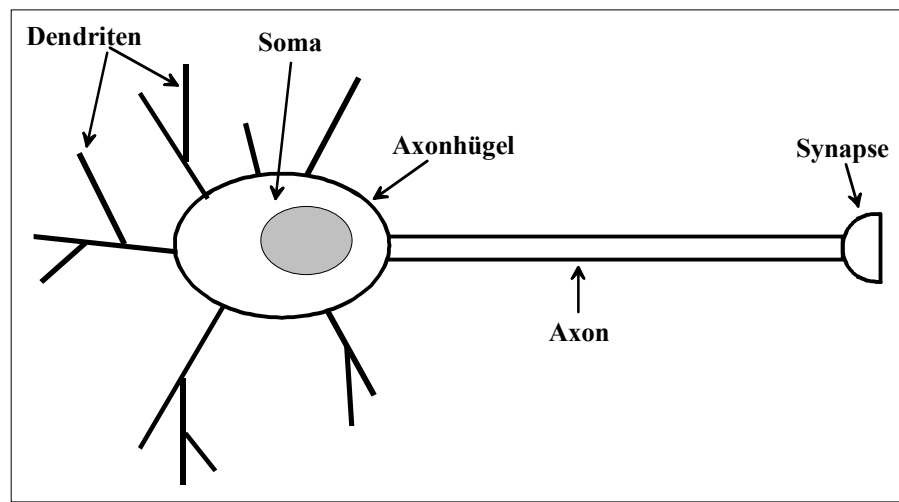


Abb. 1.1: **Schematische Darstellung eines Neurons und dessen Kompartimentierung.** An den Dendriten und am Soma kommen die Neurotransmitter anderer Neuronen an, lösen eine Änderung des Membranpotentials aus, das sich über die Membran in Richtung des Axonhügels fortpflanzt. Am Axonhügel entscheidet die Stärke des Signals, ob es zur Entstehung eines Aktionspotentials kommt oder nicht (Alles-oder-Nichts-Prinzip). Entlang des Axons kommt es zur saltatorischen Weiterleitung des Aktionspotentials, wobei dieses immer wieder aufgefrischt wird. An den Synapsen kommt es nach Eintreffen des Aktionspotentials zur Freisetzung von Neurotransmittern aus synaptischen Vesikeln. Die Neurotransmitter diffundieren über den synaptischen Spalt zum nächsten Neuron und beeinflussen dort durch Bindung an membranständige Rezeptoren das Membranpotential.

Neuronen stellen über ihre Synapsen Verbindungen untereinander her, um Erregungen weiterzuleiten. Da Neuronen nicht nur mit einem anderen Neuron interagieren, sondern mit einer Vielzahl, kommt es so zu neuronalen Schaltkreisen. Heute wird davon ausgegangen, dass bestimmte Schaltkreise für bestimmte Repräsentationen stehen. Diese Verknüpfung zwischen den Neuronen ist nicht starr, sondern ständigen Modifikationen und Umbauten unterworfen.

1.1.1.2 Glia-Zellen

Neben den Neuronen bauen noch andere Zelltypen das Gehirn auf. Dies wird, wie bereits gesagt, schon durch Betrachten des Gewebes mit dem bloßen Auge sichtbar.

Die Zellen, die den axonalen Bahnen ihre weiße Farbe verleihen, sind die Oligodendrozyten, die mit ihren Ausläufern die Axone dicht umwickeln. Ohne diese Isolierung wären die Neuronen nicht in der Lage zu funktionieren.

Doch die Oligodendrozyten sind nicht die einzigen nicht-neuronalen Zellen im Gehirn. Durch entsprechende Färbung lassen sich unter dem Mikroskop zwei weitere Zelltypen sichtbar machen: die sogenannten Astrozyten und Mikroglia-Zellen.

Alle drei Zelltypen werden zusammen als Glia-Zellen bezeichnet.

Zu Anfang ging man davon aus, dass Glia-Zellen nur eine Funktion als Zellkitt (griech. Glia = Kitt) besitzen, der nur als Matrix und Stützgerüst für die Neuronen dient. Dieses Bild hat sich mit fortschreiten der Forschung allerdings stark gewandelt.

Klassischer Weise werden den verschiedenen Zelltypen unter anderem folgende Funktionen zugewiesen:

Oligodendrozyten	Astrozyten	Mikroglia
- Myelinisierung der Axone - Kontrolle des Wachstums von Axonen	- Aufnahme überschüssiger Neurotransmitter - Aufrechterhaltung bzw. Bestandteil der Blut-Hirn-Schranke - Homeostase - Regulation des Neuritenwachstums	- Aufnahme von abgestorbenen Zellen, Zelldebris, Enzymen und eingedrungenen Pathogenen

Tab.1.1 : Einige der bisher bekannten Aufgaben der Glia-Zellen

Es konnte gezeigt werden, dass Astrozyten und Oligodendrozyten (Nguyen und Pender, 1998) Phagozytoseaktivität zeigen, wobei der *in vivo* Zusammenhang nicht klar ist.

1.1.1.3 Mikroglia-Zellen

Der Zelltyp, der in dieser Arbeit näher charakterisiert werden soll, sind die Mikroglia-Zellen. Obwohl sie bereits früh im 20. Jahrhundert von del Rio-Hortega beschrieben wurden, ist ihr Ursprung noch immer umstritten. Einige Befunde führten zu der Annahme, dass es sich um Zellen handelt, die aus dem Mesoderm (Alliot et al., 1999) oder dem Neuroektoderm

(Fedoroff et al., 1997) hervorgehen. Andere weisen darauf hin, dass die Mikroglia-Zellen aus Makrophagen hervorgehen, die auch später noch ins Hirn einwandern (Ling et al., 1980). Möglich ist allerdings, dass es verschiedene Subklassen von Mikroglia gibt, die nicht nur verschiedene Funktionen übernehmen, sondern unterschiedlichen Ursprungs sind.

Die Mikroglia-Zellen sind mit den Makrophagen eng verwandt, da sie mit diesen alle bisher bekannten zellulären Markerproteine teilen. Beide Zelltypen können bisher nur an einem unterschiedlichen Expressionsmuster von CD45 unterschieden werden (Ford et al., 1996). Es konnte beobachtet werden, dass infiltrierende Monozyten/Makrophagen im Hirn zu Zellen werden, die sehr stark dem verzweigten Typ der Mikroglia-Zellen ähneln (Ling et al., 1980).

Morphologisch können zwei Populationen von Mikroglia-Zellen unterschieden werden. Die verzweigte Form ist im normalen adulten Hirn zu finden (Perry und Gordon, 1988; Ford et al., 1996, Kreutzberg, 1996). Diese Population scheint weitgehend ruhend zu sein, in Maus und Ratte kommt es zu keiner Expression von MHC-I (Major Histocompatibility Complex Class I) und MHC-II (Class II) (Woodrooffe et al., 1989; Kreutzberg, 1996). Während der Entwicklung und auch während „pathologischer“ Ereignisse ist hingegen der amöboide Typ zu beobachten (Kreutzberg, 1996; Beyer et al., 2000). Del Rio-Hortega konnte beobachten, dass der amöboide Typ im Bereich von absterbenden Neuronen wieder zu finden ist. Er postulierte schon damals eine den Makrophagen ähnliche Rolle der Mikroglia-Zellen. Die Zellen dieser Morphologie, sind der funktionell aktive Typ der Mikroglia-Zellen. Beide Typen können reversibel ineinander übergehen (Kaur et al., 2001).

1.2 Das Immunsystem

1.2.1 Evolution des Immunsystems

Die Grundaufgabe des Immunsystems lässt sich in einem einfachen Satz zusammen fassen: Das Immunsystem muss unterscheiden zwischen Fremd und Selbst. Dadurch können körpereigene Zellen vor „Fremd“ geschützt werden.

Das Immunsystem erreicht seine höchste Entwicklungsstufe bei den Säugetieren. Diese Klasse bietet pathogenen Mikroorganismen ein besonders günstiges Milieu, sie benötigt deshalb ein besonders effektives Abwehrsystem.

Bei genauerer Betrachtung zeigt sich, dass Teile des Immunsystems zumindest in Anlagen bei niedrigeren Tieren vorhanden sind. Im Laufe der Evolution kam es zu einer Kombination verschiedener Mechanismen oder zu einer Erweiterung der Aufgaben, jedoch zu keinen

vollständig neuen Entwicklungen. Die Evolution lässt sich am Beispiel des Immunsystems besonders gut verfolgen. Aus bestehenden Gegebenheiten entsteht ein neues, viel effektiveres System.

Das Immunsystem ist so ausgereift, dass es mit Pathogenen fertig wird, die aufgrund der vergleichsweise viel geringeren Generationszeiten, höherer Mutationsraten und ihrer reinen Masse alleine überlegen scheinen. Es kommt zu einer ständigen Anpassung der Pathogene an das Milieu im Körper, das wieder vom Immunsystem geändert wird. Solange das Immunsystem bei diesem „Wettrüsten“ vorne liegt, kommt es nur zu kleinen Infektionen. „Verliert“ das Immunsystem, so kann es zum Tod des Organismus kommen. Neben Pathogenen, die erkannt und bekämpft werden, können auch onkogene Zellen frühzeitig erkannt und eliminiert werden, bevor es zu einer nicht mehr aufzuhaltenden Proliferation maligner Zellen kommt.

Da das Immunsystem ein sehr effektives, aber auch destruktives System darstellt, muss der Körper selbst geschützt werden. Dies wird dadurch erreicht, dass während ihrer Entwicklung sowohl die B-, als auch die T-Zellen, einer strengen Kontrolle unterliegen. Zellen, die früh in ihrer Entwicklung sehr stark mit (körpereigenen) „Antigenen“ reagieren, werden eliminiert. Da diese Zellen nur mit körpereigenen Molekülen in Kontakt kommen, würde ihre starke Reaktivität zu einem Angriff körpereigener Zellen führen. Welche verheerenden Konsequenzen es haben kann, wenn diese negative Selektion fehlerhaft verläuft, ist bei Autoimmunerkrankheiten zu sehen.

1.2.2 Zellen des Immunsystems

Das Immunsystem „überwacht“ alle Teile des Körpers und besteht selbst aus verschiedenen Zelltypen. Die Immunzellen wandern über das Blut- und das Lymphsystem im Körper umher, können direkt in Gewebe einwandern und dort über längere Zeit verweilen.

Die Zellen des Immunsystems gehen aus pluripotenten Stammzellen im Knochenmark hervor. Aus diesen Stammzellen gehen auch die Blutzellen hervor. Die verschiedenen Zelltypen lassen sich unter dem Mikroskop durch entsprechende Färbemethoden unterscheiden. Ihre Verwandtschaftsverhältnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

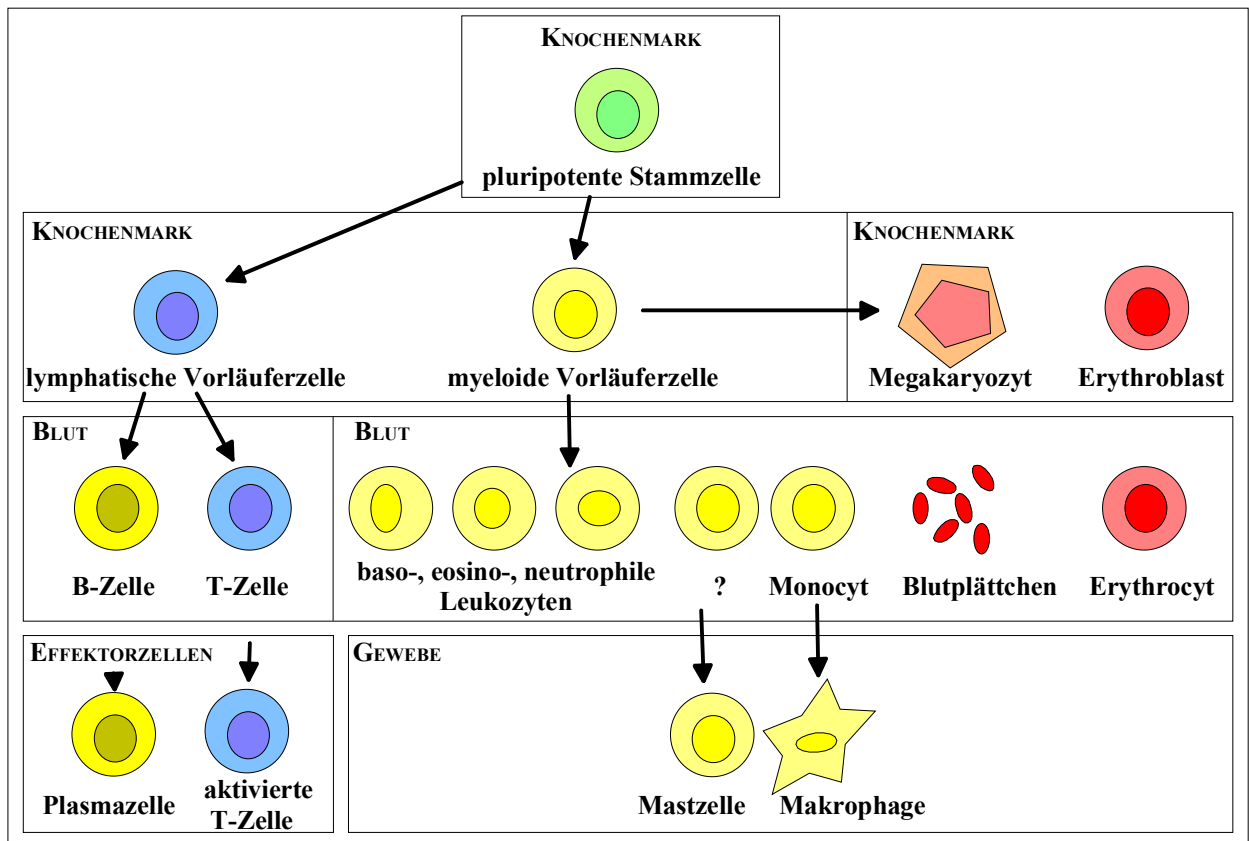


Abb. 1.2: Verwandtschaftsverhältnisse der Lymphozyten. Die Lymphozyten gehen aus einer pluripotenten Stammzelle des Knochenmarks hervor. Diese kann zum einen sich selbst erneuern, zum anderen die Vorläuferzellen der Lymphozyten und der Blutzellen bilden. Die Vorläuferzellen durchlaufen weitere Reifungsprozesse und werden schließlich zu den reifen Zellen, die aktiv die jeweiligen Aufgaben übernehmen können. (Nach Janeway und Travers, Immunologie)

1.2.2.1 Makrophagen und Dendritische Zellen

Eine große Gruppe von Zellen nimmt Pathogene auf und baut diese ab. Einige davon prozessieren die Antigene und können die entstandenen Fragmente anderen Zellen des Immunsystems präsentieren. Sie werden als Antigen-präsentierende Zellen (APC) bezeichnet. Durch diese Präsentation kommt es zu einer weiteren Steigerung der Effektivität des Immunsystems.

Direkt am Infektionsherd spielen die Makrophagen die Hauptrolle. Sie gehen aus Monozyten hervor, stellen die erste Verteidigungslinie des Körpers dar und liegen an den Haupteintrittsstellen von Pathogenen als dichtes Netzwerk vor. Sie können Antigene aufnehmen, präsentieren und nach Aktivierung zytotoxische Funktionen übernehmen. Daneben verhindern sie, dass abgestorbene Pathogene oder körpereigene Zellen zu lange im Gewebe verbleiben. Die abgestorbenen Zellen könnten wiederum selbst zu einem Wachstum

von Bakterien führen. Makrophagen spielen nicht nur bei der Immunantwort, sondern auch bei der Homöostase und bei der Entwicklung des Körpers eine wichtige Rolle.

Dendritische Zellen nehmen Antigene auf, wandern in die Lymphknoten ein und präsentieren diese B- und T-Zellen. Daraufhin kommt es zu einer Aktivierung dieser Zellen, die dann weitere Aufgaben übernehmen. Dendritische Zellen spielen somit bei der Reifung und der ersten Aktivierung von T- und B-Zellen die Hauptrolle.

1.2.2.2 B- und T-Zellen

Die beiden anderen großen Zelltypen des Immunsystems sind B-Zellen und T-Zellen.

Die Hauptaufgabe der B-Zellen besteht in der Produktion von Antikörpern, die spezifisch Epitope auf Antigenen binden. Die B-Zellen können durch somatische Rekombination und erhöhte „Mutationsraten“ eine nahezu unbegrenzte Anzahl verschiedener Antikörper bilden. So entstehen B-Zellen, deren Antikörper Antigene erkennen, die noch nie im Körper aufgetreten sind. Durch die klonale Selektion werden die B-Zellen selektiert, die Antikörper produzieren, welche eine höhere Affinität zum Antigen besitzen. Während der Reifung und Proliferation der B-Zellen kommt es zu weiteren Mutationen in der Antigen-bindenden Region der Antikörper. So können Antikörper mit noch größerer Affinität entstehen, welche die Effektivität der Immunantwort weiter erhöhen. Daneben können sie Gedächtniszellen bilden, die auf lange Zeit im Körper verbleiben und bei erneutem Antigenkontakt eine sehr viel schnellere und effektivere Immunantwort ermöglichen. Auf diesem Umstand beruht das Prinzip der Immunisierung. Die B-Zellen selbst können als APC's dienen. Sie präsentierenprozessierte Antigene an T-Zellen, die dadurch aktiviert werden und wiederum zu einer verstärkten Aktivierung der B-Zellen führen. Dadurch kommt es zu einer Steigerung der B-Zelle Effektivität.

Die T-Zellen sind nicht in der Lage, Antigene direkt zu erkennen, sondern diese müssen zuvor durch andere Zellenprozessiert werden. Die APC's präsentieren dieseprozessierten Antigene auf MHC-I bzw. MHC-II Molekülen. Durch sie werden Antigene präsentiert, die aus Proteinen hervorgingen. Über Mitglieder der CD1-Familie können Antigene präsentiert werden, die aus Glykolipiden entstammen, die also hydrophob sind.

Die T-Zellen benötigen zwei Signale, um aktiviert zu werden (Lenschow et al., 1996). Das erste Signal wird durch den Kontakt von CD4 bzw. CD8 zu den MHC-Molekülen gegeben. Das zweite Signal wird durch die sog. co-stimulatorischen Moleküle (z.B. B7.1, CD28) vermittelt.

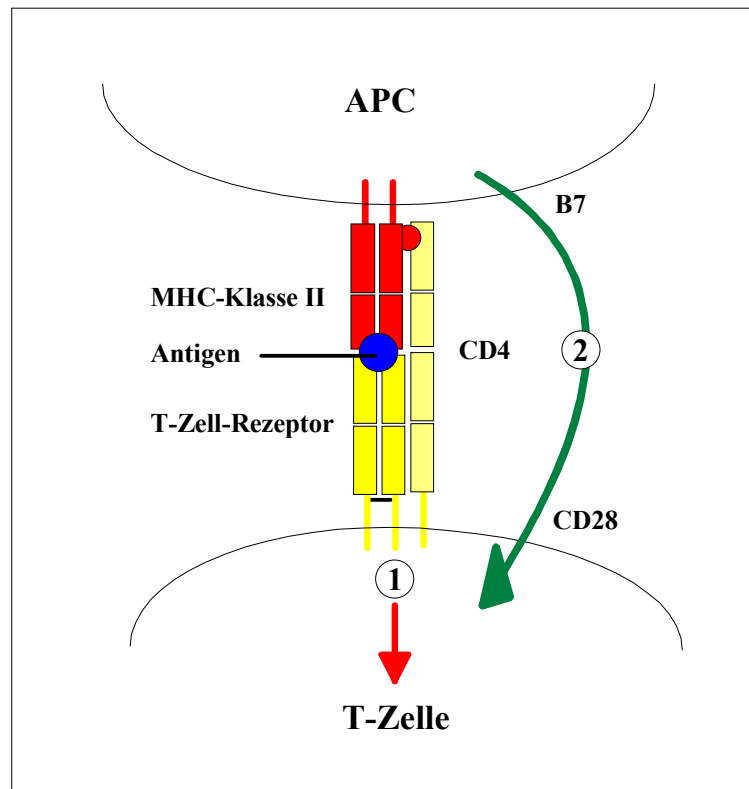


Abb. 1.3: **Aktivierung von T-Zellen.** T-Zellen benötigen zwei Signale, um vollständig aktiviert zu werden. Das erste Signal ist das Erkennen des MHC-II-Antigen-Komplexes. Das zweite Signal wird durch sog. co-stimulatorische Moleküle vermittelt (hier gezeigt Interaktion zwischen B7 und CD28). Fehlt das zweite Signal, wird die T-Zelle nicht aktiviert, sondern wird anergisch und kann apoptotisch werden. (Nach Janeway und Travers, Immunologie)

Die T-Zellen lassen sich in zwei große Subklassen unterteilen, die nach dem Co-Rezeptor benannt werden, den sie exprimieren. Die CD4 T-Zellen erkennen MHC-II und werden als T_{Helfer}-Zellen bezeichnet. Die andere Gruppe T-Zellen exprimieren CD8 und erkennen MHC-I. Sie werden als cytotoxische oder T_{Killer}-Zellen bezeichnet.

Die T_{Helfer}-Zellen besitzen vornehmlich modulatorische Aufgaben und entscheiden über die Art, wie mit einer Infektion umgegangen wird. Die Aktivität der T_{Helfer}-Zellen vom Typ-1(T_{H1}) führt zu einer inflammatorischen Antwort, während die T-Helferzellen vom Typ-2 (T_{H2}) zu einer verstärkten Aktivierung der B-Zellen führt.

Die T_{Killer}-Zellen töten körpereigene Zellen ab, die von intrazellulären Pathogenen infiziert oder onkogen sind. Die körpereigenen Zellen präsentieren auf MHC-I-Molekülen Fragmente von „ungewöhnlichen“ Proteinen. Da diese Zelle eine potentielle Gefahr darstellt wird sie gezielt von den T-Killerzellen abgetötet.

1.2.3 Die Immunantwort

Die Antwort des Immunsystems lässt sich in zwei Teile unterteilen: die angeborene Immunität und die adaptive Immunität.

Bei der angeborenen Immunität werden fremde Organismen „unspezifisch“ attackiert. Sie werden phagozytiert, verdaut und aus dem Körper entfernt, oder spezialisierte Zellen setzen Faktoren frei, die zu einem Absterben der Pathogene führen. Die angeborene Immunität stellt eine erste Verteidigungslinie des Körpers gegen Pathogene dar.

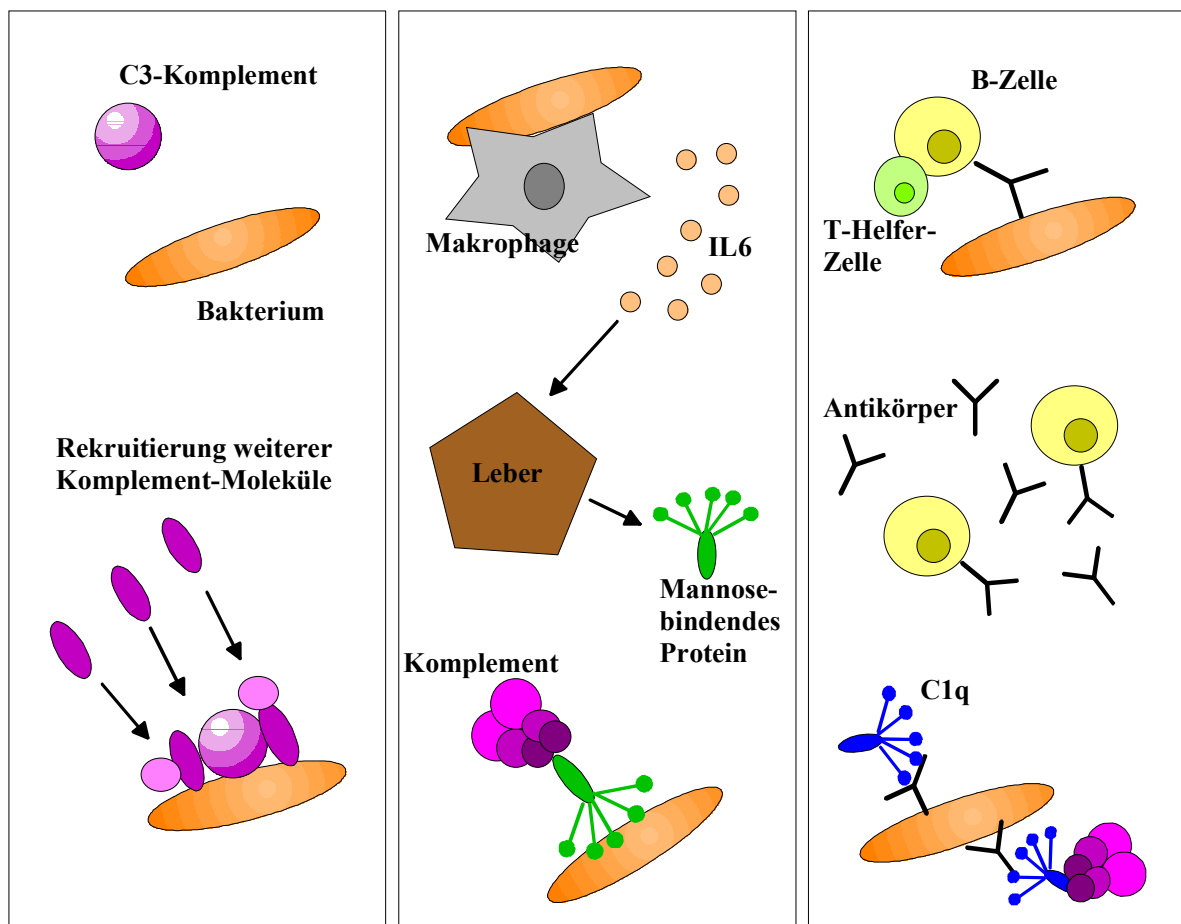


Abb. 1.4: **Wege der Aktivierung des Komplementsystems.** Prinzipiell gibt es drei Wege, auf denen das Komplementsystem aktiviert werden kann. Dabei spielen C3-Moleküle, das Mannose-bindende Protein (MBP) oder Antikörper eine Schlüsselrolle. Diese Moleküle binden jeweils Pathogene und rekrutieren dann weitere Teile des Komplementsystems, die schließlich zum Absterben des Pathogens führen. (Nach Janeway in Spektrum der Wissenschaft Spezial 2, 1997)

Eine entscheidende Rolle bei der angeborenen Immunität nimmt das Komplementsystem ein. Das Komplementsystem stellt entwicklungsgeschichtlich eine sehr alte Art der Immunität dar. Es steht zwischen der angeborenen und adaptiven Immunität und verbindet diese miteinander.

Es besteht aus ca. 30 verschiedenen Proteinen, die in einer Kaskade durch teilweisen Abbau aktiviert werden und letztendlich zum Absterben des Pathogens führen. Die Aktivierung dieser Kaskade kann auf drei Arten erfolgen (Abb. 1.4).

Medzhitov und Janeway (1997) führten das Konzept der „pattern recognition receptors“ (Muster erkennende Rezeptoren) ein. Bei vielen dieser Rezeptoren handelt es sich um Moleküle, die spezifische Kohlenhydratmotive erkennen. Zu dieser Gruppe gehört unter anderem der Mannose-Rezeptor (Siehe 1.5) und das Mannose-bindende Protein (MBP).

Das MBP wird in der Leber gebildet und zirkuliert im Blutgefäßsystem. Die Bildung von MBP wird durch IL-6 erhöht, das von Makrophagen nach Antigenkontakt ausgeschüttet wird. MBP bildet Oligomere, die wiederum aus Trimeren aufgebaut sind (Epstein et al., 1996). Diese Oligomere binden an das Pathogen und führen zu einer Aktivierung des Komplementsystems (alternativer Weg), das ein Absterben des Pathogens bewirkt. Dieses System lässt sich bis auf die Stufe der Tunikaten zurück verfolgen. Das deutet darauf hin, dass zum einen die Erkennung von Kohlenhydratmotiven ein evolutiv sehr altes System ist, zum anderen unterstreicht es nochmals die Wichtigkeit von Kohlenhydrat-bindenden Proteinen (Lektine) (Linehan et al., 2000). Für die vorliegende Arbeit ist wichtig, dass Mannose-Reste solch eine zentrale Rolle im Immunsystem des Körpers einnehmen.

An der adaptiven Immunität sind B- und T-Zellen beteiligt. Die von B-Zellen vermittelte Antwort wird als humorale Immunantwort bezeichnet. Hier spielen die Antikörper die zentrale Rolle. Durch die Antikörper-Bindung an das Antigen kommt es zur Opsonisierung, durch die die Phagozytose erleichtert wird. Durch die Antikörperbindung kann auch das Komplementsystem (klassischer Weg) aktiviert und eine Adhäsion der Pathogene an körpereigene Zellen verhindert werden. Die T_{Helfer}-Zellen unterstützen, wie bereits gesagt, eine pro- oder eine anti-inflammatorische Antwort. Die inflammatorische Antwort führt vor allem zur Eliminierung intrazellulärer Infektionen. Eine anti-inflammatorische Antwort hingegen führt zu einer Aktivierung der B-Zellen und begünstigt somit eine humorale Antwort.

Im Falle von vielen Krankheiten entscheidet die Art der Immunantwort über den Krankheitsverlauf. So kann eine pro-inflammatorische Antwort zu einer Vernichtung des Pathogens führen, während eine anti-inflammatorische Antwort zu Schädigungen des Körpers durch das Pathogen führt. Als klassische Beispiel wäre hier Lepra zu nennen. Bei der tuberkuloiden Form kommt es zu einer starken zellulären Antwort und Vernichtung des Erregers. Die Antikörperproduktion ist vernachlässigbar. Bei der lepromatösen Form kommt es zu einer starken Vermehrung des Erregers, bei gleichzeitig massiver Produktion von

Antikörpern. Eine zelluläre Immunantwort fehlt in diesem Fall fast völlig und es kommt zur Bildung von beulenartigen Auswüchsen. Bei den meisten Krankheiten sind die genauen Mechanismen allerdings nicht verstanden.

Die angeborene und die adaptive Antwort des Immunsystems sind eng miteinander verbunden. Die Zellen, die Antigene entfernen, sind oft in der Lage diese Antigene zu prozessieren und zu präsentieren. Dadurch kommt es nicht nur zu einer raschen Entfernung des Antigens, sondern zur Aktivierung des adaptiven Teils der Immunantwort. Dieser Teil ermöglicht es mit Antigenmengen fertig zu werden, die den ersten „Wall“ der angeborenen Immunität alleine „überrennen“ würden. So kann eine massive Invasion des Körpers, die schließlich zum Tode führen würde, verhindert werden.

1.2.4 Arten der Regulation

Die Aktivität des Immunsystems ist hoch organisiert und reguliert. Hierbei spielen zelluläre Moleküle eine Rolle, die bei direktem Zell-Zell-Kontakt von Bedeutung sind, und Botenstoffe, die auf größere Entfernungen wirksam sind.

Die zellulären Moleküle übermitteln Signale in die Zelle, die zu deren Aktivierung oder zur Anergie oder zum Tod der Zelle führen können. Mittels solcher Moleküle wird der Körper vor einem Angriff durch das eigene Immunsystem bewahrt. T_{Killer}-Zellen können aber auch über membrangebundene Moleküle die Apoptose einer Zellen selektiv auslösen.

Die Botenstoffe werden als Zytokine bzw. Lymphokine bezeichnet. Die meisten Zytokine besitzen multiple Aufgaben und oftmals ist ihre Funktion vom Zusammenwirken mit anderen Zytokinen abhängig. Zellen können je nach Aktivierungszustand auf ein und dasselbe Zytokin unterschiedlich reagieren.

Grundsätzlich wird zwischen Zytokine vom Typ-1 (pro-inflammatorisch) und Typ-2 (anti-inflammatorisch) unterschieden (Tab. 1.2). Erstere unterstützen eine inflammatorische Immunantwort, in deren Verlauf es zur zellulären Antwort kommt. Diese kann oftmals schädlich für das Gewebe selbst sein. Die Zytokine vom zweiten Typ hingegen führen zu einer Aktivierung der B-Zellen, die dann verstärkt Antikörper produzieren. Hier herrscht also die humorale Antwort vor.

In der Regel wirken Zytokine des einen Typs hemmend auf die Produktion des anderen Typs. Doch es kommt oftmals nicht zu einer klaren Antwort, sondern zu einer Mischform beider Typen. Ebenso sind Zytokine bekannt, bei denen die Zugehörigkeit nicht geklärt ist bzw. die Funktionen beider Gruppen übernehmen können (z.B. IL-3 und IL-6).

Typ-1 (pro-inflammatorisch)		Typ-2 (anti-inflammatorisch)	
IL-1	IL-2	IL-4	IL-5
IL-12	IL-15	IL-9	IL-10
IL-16	TNF- α	IL-13	IL-14
IFN- γ		TGF- β	

Tab. 1.2: Einige Zytokine vom Typ-1 und Typ-2 (nach Szelényi, 2000)

1.3 Gehirn und Immunität

1.3.1 Stellung des Gehirns im Immunsystem

Lange Zeit wurde dem Gehirn eine immunologische Sonderstellung im Körper zugesprochen, da es hier zu keiner Abstoßung von Allotransplantaten kommt. Man ging davon aus, dass das Gehirn durch die Blut-Hirn-Schranke vom Rest des Körpers vollständig isoliert würde. Dadurch hätten sowohl Pathogene, als auch das körpereigene Immunsystem unter normalen Umständen keinen Zugang zum Gehirn. Die Blut-Hirn-Schranke (BBB) ist jedoch nicht an allen Stellen des Gehirns vorhanden und auch die experimentelle Zerstörung der BBB führt nicht zu einer massiven Invasion des Gehirns durch Lymphozyten (Shrikant und Benveniste, 1996).

Heute ist bekannt, dass Zellen des Immunsystems auch unter nicht-pathologischen Umständen Zugang zum Gehirn haben, auch wenn dieser meist auf die Peripherie (Ventrikel, perivaskulärer Bereich) beschränkt ist (Merril und Benveniste, 1996; Shrikant und Benveniste, 1996). In direkter Nachbarschaft zu den Blutgefäßen befinden sich die sogenannten perivaskulären Mikroglia/Makrophagen, die regelmäßig durch Makrophagen lymphatischen Ursprungs ersetzt werden (Hickey und Kimura, 1988).

Doch auch T-Zellen und B-Zellen scheinen in das Gehirn einzudringen und dort zu patrouillieren. So konnte in Ratten, deren „peripheres“ Immunsystem unterdrückt wurde, eine vergleichsweise längere Lebensfähigkeit von Xenotransplantaten im Gehirn beobachtet werden (Czech et al., 1997). Ein Export von Antigen aus dem Gehirn in lymphoide Organe (Cervikale Lymphknoten) konnte ebenfalls beobachtet werden (Harling-Berg et al., 1999).

Gerade wegen der Empfindlichkeit des neuronalen Gewebes muss im Gehirn eine sehr strikte Kontrolle der Immunantwort erfolgen. Generell kann man sagen, dass im Gehirn ein anti-inflammatorisches Milieu herrscht (Fabry et al., 1994; Abbas et al., 1996). Eindringende periphere Immunzellen werden unter normalen Umständen inaktiviert und das Gehirn so vor einer Immunantwort geschützt. Welche Folgen ein Fehler in diesen Kontrollmechanismen

zeitigen kann, wird im Falle vieler Autoimmunerkrankungen deutlich. Wenn sich das Immunsystem gegen das neuronale Gewebe richtet, kann es zu Schädigungen kommen, die schließlich bis zum Tode führen können. Dies ist besonders deutlich bei der Multiplen Sklerose zu beobachten. Doch auch bei starkem Befall mit Pathogenen kann es schließlich zu einer Immunantwort kommen, die so stark ist, dass das neuronale Gewebe irreversibel geschädigt wird.

Das Gehirn ist zwar nicht vollständig isoliert, wie früher angenommen wurde, doch nimmt es zweifelsohne eine Sonderstellung ein. Ebenso ist es durch seine intrinsischen „Immunzellen“ selbst zu einer, wenn auch nur begrenzten, Immunantwort fähig.

1.3.2 Immunzellen des Gehirns

Um als APC's funktionieren zu können, müssen Zellen zuerst zur Aufnahme von potentiellen Antigenen fähig sein. Sowohl Astrozyten, als auch Mikroglia-Zellen können phagozytotisch aktiv sein (Bechmann und Nitsch, 1997; Al-Ali et al., 1988 und 1996; Iacono et al., 1991) und beide Zelltypen sind dazu fähig Antigene effektiv zu präsentieren (Fontana et al., 1984; Frei et al., 1987).

Aloisi et al. (1998) konnten allerdings nur dann eine Präsentation von Antigenen durch Astrozyten beobachten, wenn die Proteine zuvor partiell degradiert wurden. Astrozyten sind nur dazu fähig, T-Zellen vom T_{H2}-Typ zu re-stimulieren (Aloisi et al., 1998). Sie scheinen somit einer verstärkten inflammatorischen Antwort innerhalb des ZNS entgegenzuwirken. Dadurch wird eine Schädigung des neuronalen Gewebes verhindert. Vergleicht man die Effektivität der Antigen-Präsentation durch Astrozyten und Mikroglia-Zellen mit der Dendritischer Zellen, so wurde von Aloisi et al. (1999) für beide Zelltypen nach IFN- γ Stimulation *in vitro* die gleiche Effektivität, in Bezug auf die Stimulation der IL-4- und IL-10-Produktion in T-Zellen, wie für Dendritische Zellen nachgewiesen. Generell geht man allerdings davon aus, dass diese Zellen eher so effektiv sind, wie unreife Dendritische Zellen (Carson et al., 1998).

Mikroglia-Zellen reagieren schon auf kleinste pathologische Vorkommnisse im Gehirn und werden dann aktiviert (Stoll und Jander, 1999). Die verzweigten Mikroglia-Zellen verändern ihre Morphologie, regulieren die Expressionsrate verschiedener Moleküle auf ihrer Oberfläche hoch (CR3, MHC-II, Fc-Rezeptor I-III usw.) und Chemokine können eine Migration der Mikroglia-Zellen auslösen (Cross und Woodroffe, 2001). Muster-erkennende Rezeptoren, z.B. CD14 (Nadeau und Rivest, 2000), werden erst nach einer Aktivierung der

Mikroglia-Zellen exprimiert, während CR3 auch schwach in ruhenden Mikroglia-Zellen exprimiert wird (Akiyama et al., 1990).

Es konnte gezeigt werden, dass Mikroglia-Zellen eine Reihe von Rezeptoren für Moleküle neuronalen Ursprungs besitzen. Viele dieser Moleküle scheinen dafür verantwortlich zu sein, dass die Mikroglia-Zellen in ihren inaktiven, verzweigten Zustand übergehen. So konnte *in vitro* bewiesen werden, dass elektrisch aktive Neuronen die Induktion von MHC-II durch IFN- γ verhindern können (Neumann et al., 1996). Die Schlüsselrolle scheint dabei der OX2-Rezeptor auf Mikroglia zu spielen, der OX2 bindet, das von Neuronen exprimiert wird (Aloisi, 2001). Auch die Ausschüttung von Mediatoren durch die Mikroglia-Zellen kann durch bestimmte Neuropeptide unterbunden werden (Aloisi, 2001). Dies bedeutet, dass die Neuronen dazu fähig sind die Aktivität der Mikroglia-Zellen zu beeinflussen und dass so räumliche Unterschiede in der Mikroglia-Zellen Population erklärt werden können. Andererseits können Mikroglia-Zellen so bereits kleine physiologische Abweichungen in ihrem Umfeld erkennen und entsprechend darauf reagieren.

Mikroglia-Zellen sind sowohl zur Endozytose, als auch zur Phagozytose (z.B. von apoptotischen Zellen) fähig (Streit und Kreutzberg, 1988; Chan, 2001). Die Mikroglia-Zellen tragen so zur Homeostase des Gehirns bei. Sie können mittels verschiedener Muster-erkennender Rezeptoren gezielt an bestimmte Motive binden, dadurch Selbst von Fremd unterscheiden und immunologische Aufgaben übernehmen. Mikroglia-Zellen sind wie Makrophagen nicht nur zur Aufnahme von potentiellen Pathogenen fähig, sondern können diese auch prozessieren und dann als Antigen-präsentierende Zellen fungieren (Frei et al., 1987). Es konnte von einer Gruppe beobachtet werden, dass T_{H2} -Zellen die Umwandlung von Mikroglia-Zellen in Antigen-präsentierende Zellen nicht auslösen können (Aloisi et al., 2000b). Dieses Ergebnis ist allerdings umstritten. Die durch T_{H1} -Zellen aktivierten Mikroglia-Zellen können hingegen als voll funktionsfähige APC's fungieren. Sie exprimieren nach entsprechender Stimulation MHC-II und co-stimulatorische Moleküle (CD11a, CD40, CD54, CD80 und CD86) (De Simone et al., 1995; Kreutzberg, 1996; Gehrman et al., 1995). Bereits aus gesunden Gehirnen isolierte Mikroglia exprimieren das co-stimulatorische Molekül B7.2 (Williams et al., 1994). Somit können Mikroglia T-Zellen sowohl Signal 1, als auch Signal 2 (s.o.) geben und diese dadurch aktivieren. Mikroglia-Zellen können sowohl eine T_{H1} -, als auch eine T_{H2} -Antwort unterstützen (Aloisi et al., 1998). Je nach dem vorhandenen Profil an löslichen Faktoren und zellulären Molekülen können Mikroglia-Zellen somit an einer inflammatorischen Reaktion teilnehmen oder diese einschränken (Aloisi et al., 2000a).

Mikroglia können zytotoxisch wirken und den Tod von Pathogenen und körpereigenen Zellen auslösen. Dies könnte gerade im Falle von neurologischen Erkrankungen eine sehr große Rolle spielen, wenn Oligodendrozyten (Merrill et al., 1993) und Neuronen (Merrill und Benveniste, 1996) attackiert werden.

Es konnte gezeigt werden, dass die Interaktion mit Glia-Zellen auch zu einer Inaktivierung bzw. zum Absterben der T-Zellen (Ford et al., 1995 und 1996; Perry 1998) bzw. der Makrophagen (Hailer et al., 1998) führt. Da Mikroglia-Zellen konstitutiv Fas-Ligand exprimieren, könnte dadurch die Apoptose von aktivierten T-Zellen ausgelöst werden, die ins ZNS eingedrungen sind (Ford et al., 1996; Bonetti et al., 1997). Mikroglia-Zellen können sowohl pro-, als auch anti-inflammatorische Zytokine und reaktive Sauerstoffspezies freisetzen (Cross und Woodroffe, 2001; Aloisi, 2001). Daneben sind Mikroglia-Zellen und Astrozyten zur Sekretion immunregulatorischer Mediatoren fähig und können so die Art und Stärke der Immunantwort beeinflussen (Benveniste, 1992; Aloisi et al., 2000a). Dies spricht dafür, dass Mikroglia-Zellen aktiv an einer Immunantwort innerhalb des Gehirns teilnehmen. Da es nach dem vollständigen Auslösen einer Immunantwort im Gehirn zu einer massiven Invasion durch Makrophagen kommt, ist nicht klar, welche Rolle die Mikroglia-Zellen dann spielen. Durchaus denkbar ist allerdings, dass die Mikroglia-Zellen zu Beginn bzw. bei kleineren Infektionen eine entscheidende Rolle spielen.

1.4 Der Mannose-Rezeptor

Der Mannose-Rezeptor selbst ist ein Glykoprotein, das bestimmte Kohlehydratmotive erkennt, diese selektiv bindet und so Liganden aus dem Blut oder Gewebe binden und deren Aufnahme in die Zelle auslösen kann. Er spielt deshalb eine entscheidende Rolle bei der Homeostase und Immunabwehr des Körpers. Funktionell gehört der Mannose-Rezeptor, zu den C-Typ Lektinen (Stahl, 1992).

1.4.1 Aufbau des Mannose-Rezeptors

Beim Mannose-Rezeptor handelt sich um ein transmembranes Glykoprotein, dessen C-Terminus im Zellinneren liegt.

Der Mannose-Rezeptor wird als Vorläuferprotein mit einer molekularen Masse von 157 kDa gebildet und reift durch Glykosylierung zur funktionellen Form heran (Blum et al., 1991;

Pontow et al., 1996). Ein Mannose-Rezeptor ist durchschnittlich für 33h aktiv, bevor er in der Zelle abgebaut wird (Lennartz et al., 1989).

Die molekulare Masse der reifen Form liegt zwischen 168-180 kDa (je nach Spezies). Das Gen des Mannose-Rezeptors konnte in der Maus auf Chromosom 2 lokalisiert werden und umfasst mindestens 70 Kilobasenpaare. Es besteht, wie das Gen des Menschen, aus 30 Exons und 29 Introns (Harris et al., 1994).

Betrachtet man den molekularen Aufbau, so kann man fünf Module unterscheiden:

- Cystein-reiche Domäne (Cr-Domäne)
- Fibronectin-II-Domäne
- Acht Kohlenhydrat-erkennende Domänen (CRD)
- Transmembran-Domäne
- C-Terminus im Zellinnern

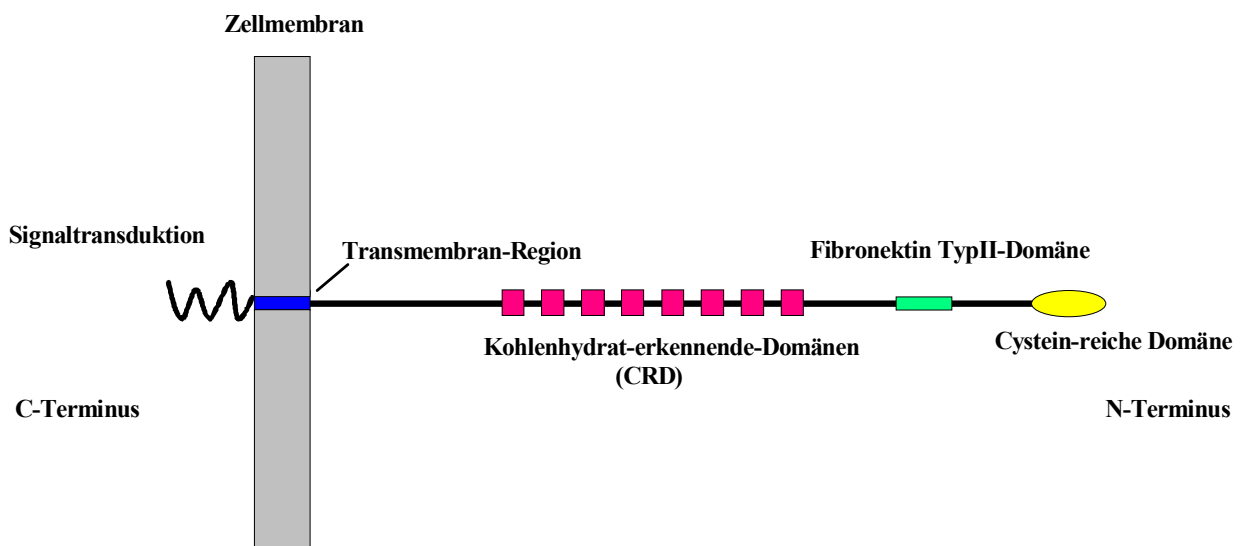


Abb. 1.5: Schematische Darstellung des Mannose-Rezeptors

1.4.1.1 Die Cystein-reiche Domäne (Cr-Domäne)

Die Cystein-reiche Domäne weist sechs Cystein-Reste auf. Ihre Funktion wurde lange Zeit darin gesehen, dass sie zu einer Oligomerisierung mehrerer Rezeptoren beiträgt, wodurch eine weitere Erhöhung der Valenz des Mannose-Rezeptors erreicht werden könnte.

Wie sich allerdings zeigte, können auch GalNAc-4-SO₄-Motive durch die Cr-Domäne gebunden werden (Fiete et al. 1998). Sie bindet verschiedene körpereigene Moleküle, so z.B. die Hormone der Hypophyse (Simpson et al., 1999) und Thyroglobulin (Linehan et al., 2001).

Man geht davon aus, dass der Rezeptor an der Inaktivierung/Homeostase dieser Hormone beteiligt ist.

Wie genetische Untersuchungen ergaben, enthält diese Domäne ein Modul, das einem Teil des pflanzlichen Lektins Ricin stark ähnelt (Harris et al., 1994).

Besonders interessant ist, dass Sialoadhesin und CD45 gebunden werden können (Martinez-Pomares et al., 1999). Dies könnte bedeuten, dass es über die Cr-Domäne des Mannose-Rezeptors zu zellulären Interaktionen zwischen Zellen des Immunsystems kommt. Weitere Experimente zeigten, dass Makrophagen in der Marginalzone der Milz, verschiedene Moleküle im Sinus von Lymphknoten und in den B-Zell-Keimzentren über die Cr-Domäne gebunden werden können (Martinez-Pomares et al., 1996). Dies könnte darauf hindeuten, dass Zellen die den Mannose-Rezeptor exprimieren bzw. Rezeptor-Liganden-Komplexe in diese Bereiche dirigiert werden, in denen es zur Etablierung der humoralen Immunantwort kommt.

1.4.1.2 Die Kohlenhydrat-erkennenden und -bindenden Domänen (CRD's)

Die Bindung an bestimmte Kohlenhydratmotive erfolgt über die acht CRD's. Diese weisen konservierte Aminosäure Motive auf, die bei allen C-Typ Lektinen zu finden sind.

Nähere Untersuchungen zeigten, dass die Bindung an Liganden sowohl vom pH-Wert, als auch von Ca^{2+} abhängig ist (Tietze et al., 1980; Stahl et al., 1980). Die Bindung von Liganden erfolgt bei neutralem pH. Sinkt der pH-Wert ab, so dissoziiert der Ligand vom Rezeptor. Dies bedeutet, dass der Ligand innerhalb der Zelle freigesetzt wird, wenn der pH-Wert innerhalb der Endosomen/Phagosomen absinkt. Danach wandert der Rezeptor wieder zur Zelloberfläche zurück, während der Ligand im Zellinneren verbleibt und dort abgebaut wird.

Wie Deletionsexperimente zeigten, spielen die CRD's 1-3 und 8 keine große Rolle. Die CRD's 4-7 alleine können genauso effektiv an Liganden binden. Die CRD 4 besitzt die höchste Affinität zu den Liganden (Mullin et al., 1997). Aber nur in Verbindung von CRD 4, CRD 5 und CRD 7 kommt es zu einer effektiven Endocytose (Mullin et al., 1992).

Die Bindungsstärke verschiedener potentieller Liganden ergibt folgende Reihenfolge: L-Fucose > D-Mannose > D-Glucose > D-N-Acetyl-Glucosamin >>> D-Galactose (Stahl et al., 1978; Kéry et al., 1992).

Die CRD's können Liganden in Makrophagen, Endothelzellen und sekretorische Zellen (exokriner Pankreas, Speicheldrüsen und Schilddrüse) binden (Linehan et al., 1999). Dies könnte auf eine zusätzliche Rolle bei der Homeostase hindeuten.

1.4.1.3 Fibronectin Typ-II Domäne

Die genaue Funktion der Fibronectin Typ-II Domäne ist bisher nicht bekannt. Allerdings konnte beobachtet werden, dass einige Bakterien über einen Rezeptor an diesen Teil binden (Stahl et al., 1992). So könnte auch dieser Teil dazu dienen potentielle Pathogene gezielt zu binden und durch die Vermittlung der Phagozytose schließlich zu eliminieren. Ein solcher Mechanismus wird bei der Aufnahme von *Borrelia burgdorferi* postuliert (Cinco et al., 2001), da *B. burgdorferi* zuerst an die Fibronectin-Domäne bindet und danach an die CRD's. Eine weitere potentielle Funktion dieses Teils ist die Interaktion mit der extrazellulären Matrix. Es konnte gezeigt werden, dass sich Zellen, die den Mannose-Rezeptor exprimieren, an die extrazelluläre Matrix anheften und abflachen.

1.4.1.4 Transmembran- und intrazelluläre Domäne

Über die Transmembran-Domäne ist der Rezeptor in der Membran der Zelle verankert. Der intrazelluläre C-Terminus kann Signale übermitteln, die unter anderem Endozytose und Phagozytose auslösen können. Der Mannose-Rezeptor kann nach Transfektion in Cos-1 Zellen die Phagozytose von Hefen auslösen (Ezekowitz et al., 1990), die ohne Transfektion nicht beobachtet werden kann. Das Signalmotiv für die Endozytose/Phagozytose zeigt keine Ähnlichkeit zu anderen bekannten Signalmotiven. Es kann allerdings beobachtet werden, dass sowohl das intrazelluläre Signalmotiv, als auch die Transmembran-Domäne für die Endozytose und Phagozytose nötig sind (Kruskal et al., 1992)

1.4.1.5 Die lösliche Form des Mannose-Rezeptors

Der Mannose-Rezeptor kann auch in einer löslichen Form im Serum gefunden werden, die durch proteolytische Abspaltung des extrazellulären Teils entsteht (Martinez-Pomares et al., 1998). Welche Rolle die lösliche Form des Mannose-Rezeptors im Serum spielt, ist bisher unklar. Denkbar wäre allerdings, dass potentielle Pathogene gebunden und dann über die Cystein-reiche Domäne an Orte dirigiert werden, an denen eine Aktivierung von Immunzellen erfolgt (siehe 1.4.1.1).

1.4.2 Funktion des Mannose-Rezeptors

1.4.2.1 Liganden des Mannose-Rezeptors

Der Mannose-Rezeptor bindet spezifisch an Mannose-Reste und kann dadurch eine Reihe von Molekülen über Endozytose aufnehmen. Mannose-Reste sind auf vielen Pathogenen zu finden, die dann über den Mannose-Rezeptor vermittelt aufgenommen werden können.

Einige körpereigene Proteine weisen Mannose-Motive auf, über die sie an den Rezeptor binden können. Daher kann der Mannose-Rezeptor unter anderem viele lysosomale Proteasen (Stahl, 1992; Ezekowitz und Stahl, 1988) und Glykosidasen (Stahl et al., 1978) und Peroxidasen (Shepherd und Hoidal, 1990) erkennen und binden. Dies spielt besonders während der Entwicklung und bei Vorkommnissen eine Rolle, bei denen lysosomale Enzyme freigesetzt werden. Diese würden Zellen in der direkten Nachbarschaft angreifen und so zu einem sich selbst fortpflanzenden Absterben der Zellen führen. Durch Aufnahme über den Mannose-Rezeptor werden die Enzyme entfernt und dadurch neutralisiert (Blum et al., 1991). Auch die Bindung von Hormonen (Simpson et al., 1999; Linehan et al., 2001) und t-PA (Barrett-Bergshoeff et al., 1997) ist beschrieben worden.

Bisher konnte bewiesen werden, dass der Mannose-Rezeptor Mikroorganismen aus den Stämmen der Protozoen, der Pilze und der Bakterien erkennt.

Mikroorganismus	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>HIV (gp120)</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Pneumocystis carinii</i>
<i>Leishmania donovani</i>	<i>Leishmania mexicana</i>
<i>Tripanosoma cruzi</i>	

Tab. 1.3: Pathogene, die vom Mannose-Rezeptor gebunden werden können (nach Fraser et al., 1998)

Einige Mikroorganismen haben allerdings Möglichkeiten gefunden dem Abbau in der Zelle zu entgehen. In diesen Fällen trägt der Mannose-Rezeptor somit zu einer Infektion der Zellen bei. Einige der Pathogene können die Aktivität des Rezeptors nach einer Infektion

beeinflussen. So wird *Trypanosoma cruzi* in Herzmuskelzellen über den Mannose-Rezeptor aufgenommen und die Aktivität des Rezeptors nach der Infektion heruntergefahren (Soeiro et al., 1999). Eine Infektion mit *Pneumocystis carinii* führt dazu, dass der Mannose-Rezeptor auf der Zelloberfläche abgespalten wird. Diese lösliche Form bindet an *P. carinii* und verringert dadurch die Aufnahme in Makrophagen (Fraser et al., 2000). Dies bedeutet, dass es nicht zu einer Unterstützung der Immunabwehr kommt, sondern dass die lösliche Form des Mannose-Rezeptors zu einer leichteren Ausbreitung des Pathogens im Körper beiträgt.

In der vorliegenden Arbeit spielt *Candida albicans* eine besondere Rolle, da diese Hefen als Model für die Phagozytose genutzt wurde. *C. albicans* ist ein kommensalischer Bewohner des menschlichen Körpers, der normalerweise zu keinen Komplikationen führt. Es kann aber gerade in Fällen, bei denen das Immunsystem des Menschen geschwächt ist (z.B. bei HIV, nach Transplantationen u.ä.), beobachtet werden, dass die Pilze zu massiven Infektionen führen können. Diese Infektionen können systemisch werden und dann zum Tode des Patienten führen.

Es ist bekannt, dass *C. albicans* über den Mannose-Rezeptor aufgenommen werden kann (Marodi et al., 1991b). Wie sich zeigt, beeinflusst *C. albicans* nach einer Infektion der Zelle die Expressionsrate des Mannose-Rezeptors (Shepherd et al., 1997). Es kommt zu einer Verringerung der Aktivität des Rezeptors und zu einem beschleunigten Abbau des Rezeptors. *C. albicans* kann also die Aktivität eines Rezeptors beeinflussen, der an der Phagozytose und damit an der Immunantwort des Wirtes beteiligt ist.

1.4.2.2 Über den Mannose-Rezeptor vermittelte Endozytose und Phagozytose

Bereits im Lichtmikroskop lässt sich beobachten, dass Zellen dazu fähig sind Teile ihrer Membran abzuschnüren und ins Zellinnere aufzunehmen. Je nachdem, welche Art von Teilchen dabei mit ins Innere der Zelle gelangt, spricht man von Endozytose (Moleküle) oder von Phagozytose (größere Partikel, $>0.5 \mu\text{m}$).

Die Endozytose kann nochmals weiter unterteilt werden. Im Falle der Pinozytose werden Moleküle aufgenommen, die nicht mit der Membran wechselwirken, sie werden einfach mit der die Zelle umgebenden Flüssigkeit aufgenommen. Bei der Rezeptor-vermittelten Endozytose kommt es zu spezifischen Wechselwirkungen mit Rezeptoren, die auf der Oberfläche der Zelle sitzen. Diese Rezeptoren können in verschiedene Klassen unterteilt werden (Brown und Greene, 1991).

- Klasse I: Rezeptor und Ligand dissoziieren in der Zelle (frühes Endosom), wobei der Rezeptor wieder auf die Zelloberfläche zurückwandert.
- Klasse II: Rezeptor und Ligand wandern zusammen wieder auf die Zelloberfläche.
- Klasse III: Rezeptor und Ligand wandern in Lysosomen und werden dort degradiert.
- Klasse IV: Rezeptor und Ligand wandern unverändert durch eine polare Zelle und werden auf der anderen Seite freigesetzt. (Transzytose)

Ein Rezeptor kann zu verschiedenen Klassen gehören. Dabei ist nicht bekannt, über welche Mechanismen festgelegt wird, welchen Weg der Rezeptor wählt.

In Experimenten konnte gezeigt werden, dass verschiedene Rezeptoren zwar mit unterschiedlichen Raten aufgenommen werden können, sie sich aber innerhalb der Zelle mit der gleichen Geschwindigkeit bewegen (Ward et al., 1989). Die Maschinerie, die für die Bewegung der Rezeptoren innerhalb der Zelle zuständig ist, wird also nicht von den Rezeptoren beeinflusst.

Bei der Endozytose ging man lange Zeit davon aus, dass sie immer abhängig von Clathrin sei. Heute sind allerdings auch endozytotische Vorgänge bekannt, an denen kein Clathrin beteiligt ist, so z.B. in Makropinosomen und bei Caveolae. Auch wenn diese Mechanismen bisher nur schlecht verstanden sind, so spricht einiges dafür, dass hieran Signalapparate beteiligt sind, die mit den sog. „lipid rafts“ assoziiert sind (Nichols und Lippincott-Schwartz, 2001).

Die Phagozytose geht immer mit einer Umbildung des Aktin-Netzwerks der Zelle einher (May und Machesky, 2001). Wie diese Umbildung allerdings genau vonstatten geht und wie die verschiedenen Rezeptoren dies beeinflussen, ist aufgrund der hohen Komplexität der Signalwege nicht bekannt. Bei der mikroskopischen Betrachtung der Phagozytose, können schon Unterschiede sichtbar werden. In manchen Fällen bilden sich Pseudopodien aus, die den Partikel umschließen (im Falle des Fc-Rezeptors), in anderen Fällen hingegen scheint der Partikel einfach in die Zelle einzusinken (im Falle des Komplement-Rezeptors). Die Phagozytose ist ein aktiver Vorgang der Energie verbraucht.

Der Mannose-Rezeptor bindet den Liganden auf der Zelloberfläche, setzt diesen im endosomalen Kompartiment frei und wandert selbst wieder zurück auf die Zelloberfläche (Stahl et al., 1980). Dieses Recycling kann durch Verhinderung der pH-Wert Senkung unterbrochen werden (Tietze et al., 1980 und 1982). Dies lässt sich wahrscheinlich dadurch erklären, dass es zu keiner Dissoziation des Rezeptor-Liganden Komplexes kommt, wodurch der Rezeptor in der Zellen zurück gehalten wird. Der Ligand wird in der Zelle entweder für

eine Präsentation prozessiert, oder in Lysosomen ganz abgebaut. Die Internalisierung des Rezeptors läuft bei kleinen Liganden (Endozytose) über Clathrin-abhängige Mechanismen ab. Es können zwei verschiedene Rezeptor-Pools unterschieden werden (Tietze et al., 1982). Während der erste Pool recycelt, bleibt der zweite Rezeptor-Pool an seinen Liganden gebunden, wandert mit diesem ins Innere der Zelle und auch wieder zurück auf die Zelloberfläche. Welche Rolle das Vorhandensein beider Pools allerdings spielt, ist bisher unklar.

1.4.2.3 Rolle des Mannose-Rezeptors bei der Immunabwehr

Der Mannose-Rezeptor wurde erstmals in Makrophagen der Leber (Schlesinger et al., 1978) und in alveolären Makrophagen (Stahl et al., 1978) beschrieben. Heute ist bekannt, dass er in den meisten reifen Makrophagen, einigen Endothel-Zellen (Linehan et al., 1999) und in Dendritischen Zellen (Sallusto et al., 1995; Engering et al., 1997a und b) exprimiert wird. Im Gehirn kann eine Expression des Mannose-Rezeptors in Mikroglia-Zellen und Astrozyten (Burudi et al., 1999) nachgewiesen werden.

In einigen Endothel-Zellen könnte er eine Rolle bei der Anheftung von Immunzellen spielen. Da der Mannose-Rezeptor an L-Selektin binden kann, könnte diese Interaktion am Verlassen der Lymphbahnen durch Lymphozyten beteiligt sein (Irjala et al., 2001). Makrophagen und Dendritische-Zellen (Sallusto et al., 1995) können über diesen Rezeptor Antigene aufnehmen, diese prozessieren und T-Zellen präsentieren. Doch nicht nur die Präsentation über MHC-II konnte beobachtet werden, sondern auch über CD1b (Prigozy et al., 1997). Dies bedeutet, dass über den Mannose-Rezeptor auch Antigene zur Präsentation aufgenommen werden können, die nicht aus Proteinen stammen. Da der Mannose-Rezeptor Motive erkennt, die unter normalen Umständen nicht auf Zellen des eigenen Organismus vorkommen, liegt es nahe, eine Rolle als „Muster erkennenden Rezeptor“ (Medzhitov und Janeway, 1997) anzunehmen, der potentielle Pathogene binden und so eliminieren kann (Stahl et al., 1998). Doch auch die Aktivität der Zellen kann durch den Mannose-Rezeptor moduliert werden (vgl. 1.4.2.5).

Auch bei Autoimmunerkrankungen scheint der Mannose-Rezeptor eine Rolle zu spielen. So können im Falle vieler Autoimmunerkrankungen (z.B. rheumatoide Arthritis) vermehrt G0 IgG-Antikörper gefunden werden. Diese tragen keine terminalen Galactose-Reste mehr, sondern weisen nun freie N-Acetylglucosamin-Reste auf. Es konnte gezeigt werden, dass diese Antikörper in Makrophagen und Dendritischen Zellen nun verstärkt über den Mannose-

Rezeptor aufgenommen werden. Dies stellt nicht nur einen neuen Weg dar, wie Antikörper bzw. Antigen-Antikörper-Komplexe in APC's aufgenommen werden können, sondern im Falle von Autoimmunerkrankungen, bei denen vermehrt G0 IgG's auftreten, könnte dies eine besondere Rolle spielen (Dong et al., 1999).

1.4.2.4 Regulation der Expression und Funktion des Mannose-Rezeptors durch Zytokine

Von verschiedenen Zellen ist bekannt, dass sie die Expression des Mannose-Rezeptors ändern, wenn sie mit Zytokinen stimuliert werden. Prinzipiell ging man davon aus, dass pro-inflammatorische Zytokine zu einer Reduktion der Expression und Aktivität des Mannose-Rezeptors führen, während anti-inflammatorische Zytokine diese erhöhen. Wie sich allerdings zeigte, ist dieses Bild stark vereinfacht, da in verschiedenen Zelltypen unterschiedliche Effekte der Zytokine beobachtet werden können.

So kommt es in glomeruläre Mesangial-Zellen, die normalerweise keinen Mannose-Rezeptor exprimieren, nach einer Aktivierung dieser Zellen durch TNF- α oder IL-1 zur Expression von funktionell aktiven Mannose-Rezeptoren (Liu et al., 1996). Ähnliches kann auch in einer Subklasse von sinusoidalen Endothel-Zellen der Leber beobachtet werden. In diesen Zellen führt die Stimulation mit IL-1 zu einer erhöhten Aufnahme von Liganden über den Mannose-Rezeptor (Asumendi et al., 1996). Dies bedeutet, dass in diesen Zelltypen Typ-1 Zytokine eine Expression des Mannose-Rezeptors auslösen bzw. zu einer erhöhten Aktivität des Mannose-Rezeptors führen.

In Makrophagen führt die Stimulation mit dem pro-inflammatorischen IFN- γ zu einer Reduktion der Expression des Mannose-Rezeptors (Harris et al., 1992), die allerdings durch Dexamethason (Shepherd et al., 1994), Prostaglandin E (Schreiber et al., 1993) oder IFN- α/β (Alan et al., 1986) verhindert werden kann. Eine verringerte Aktivität kann auch nach Stimulation mit GM-CSF (Chroneos und Shepherd, 1995) und LPS (Shepherd et al., 1990) beobachtet werden. Die Expression und Aktivität des Mannose-Rezeptors in Makrophagen wird durch Stimulation mit IL-4 (Stein et al., 1992), IL-13 (deFife et al., 1997) und M-CSF (Karbassi et al., 1987) verstärkt.

In Dendritischen Zellen führt die Stimulation mit IL-10 zu einer erhöhten Expression und endozytotischen Aktivität (Longoni et al., 1998) des Mannose-Rezeptors. Die Stimulation mit IL-1, LPS und TNF- α führt in Dendritischen Zellen hingegen zu einer verringerten Aktivität des Mannose-Rezeptors (Sallusto et al., 1995). In Endothel-Zellen der Leber führt die Stimulation mit IL-10 zu einer geringeren Aktivität des Mannose-Rezeptors (Knolle et al.,

1998). Hier zeigt sich, dass ein und dasselbe Zytokin in verschiedenen Zellen verschiedene regulatorische Effekte auf die Expression bzw. Aktivität des Mannose-Rezeptors haben kann. Dies bedeutet, dass man die Ergebnisse aus einem Zelltyp nicht generell auf andere Zelltypen übertragen kann. Für jeden Zelltyp müssen somit eigene Untersuchungen durchgeführt werden.

1.4.2.5 Aktivierung der Zellen über den Mannose-Rezeptor

Der Mannose-Rezeptor kann andere für die Immunantwort der Zelle notwendige Moleküle direkt beeinflussen. Es konnte nachgewiesen werden, dass der Mannose-Rezeptor die Aktivität anderer Rezeptoren beeinflussen kann. So trägt er zu einer verstärkten Expression des Fc-Rezeptors bei (Murai et al., 1995 und 1996). Der Mannose-Rezeptor bindet α 2-Makroglobulin, wodurch die Expression des Fc-Rezeptors gesteigert wird. Ohne die Aktivität des Mannose-Rezeptors kann dieser Effekt von α -Makroglobulin nicht beobachtet werden. Dies bedeutet, dass der Mannose-Rezeptor zum einen selbst immunologische Aufgaben übernehmen und auch anderer immunologisch wichtiger Moleküle beeinflussen kann. Auf der anderen Seite verlieren Makrophagen *in vitro* ihre Fähigkeit IgG beschichtete Erythrozyten über den Fc-Rezeptor aufzunehmen, wenn sie auf mit Mannan (Mannose-Polymer) beschichteten Kulturschalen ausplattiert werden (Sung et al., 1985).

Daneben kann der Mannose-Rezeptor in Makrophagen die Sekretion von inflammatorischen Mediatoren auslösen. Nach Binden eines entsprechenden Liganden an den Rezeptor konnte die Sekretion von reaktiven Sauerstoff Derivaten, Metaboliten der Arachidonsäure, neutralen Proteinasen, lysosomaler Enzyme (Ohsumi et al., 1987), TNF- α (Garner et al., 1994) und von Monokinen nachgewiesen werden (Ezekowitz et al., 1990). Von Yamamoto et al. (1997) konnte bewiesen werden, dass Makrophagen nach Bindung von *C. albicans* IL-1 β , IL-6 und GM-CSF bilden. Je nach Größe des Liganden und dem daraus resultierenden Aufnahmemodus kann allerdings ein Unterschied in der resultierenden Aktivierung der Zelle beobachtet werden. So kann Phagozytose von Chitin-Partikeln die Produktion von IL-12 auslösen, die Rezeptor-vermittelte Endozytose hingegen nicht (Shibata et al., 1997). Die über den Mannose-Rezeptor vermittelte Endozytose kann sich in Dendritischen Zellen sogar negativ auf die durch LPS induzierte Freisetzung von IL-12 auswirken (Nigou et al., 2001). Der Vergleich mehrerer Ergebnisse weist allerdings darauf hin, dass die Aktivität des Mannose-Rezeptors nicht immer zum gleichen Ergebnis führt, sondern dass es auf den

Aktivierungszustand der Zelle und wahrscheinlich auch auf das Zusammenspiel mit anderen Rezeptoren ankommt (Linehan et al., 2000).

1.5 Fragestellung

Mikroglia-Zellen wird die Rolle der immunkompetenten Zellen des ZNS zugesprochen. In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, wie Mikroglia-Zellen auf verschiedene Stimuli reagieren und welche Schlüsse man aus ihrem Verhalten auf die Rolle als immunkompetente Zellen ziehen kann.

Von besonderem Interesse war hierbei die Rolle, die der Mannose-Rezeptor in diesen Zellen spielt. Die Expression dieses Rezeptors in Astrozyten und Mikroglia-Zellen wurde im Labor von A. Régnier-Vigouroux nachgewiesen. Da der Mannose-Rezeptor bei der Immunantwort des „peripheren“ Immunsystems involviert ist, sollte seine Funktion in Mikroglia-Zellen bestimmt werden. Seine Rolle bei der Endozytose und der Phagozytose sollte näher bestimmt werden.

Am Beispiel des Modells *C. albicans* sollte die Phagozytose-Aktivität der Mikroglia näher untersucht werden. Mit Hilfe mannosylierter Liganden sollte die Endozytose-Aktivität der Mikroglia-Zellen beobachtet werden. An diesen Modellen sollten die Auswirkungen einer Stimulation mit Zytokinen untersucht werden, wodurch die Verhältnisse unter „pathologischen“ Bedingungen (zumindest teilweise) simuliert werden sollte. Die Verteilung des Mannose-Rezeptors in der Zelle und deren Regulation sollte ebenfalls geklärt werden.

Daneben sollte bestimmt werden, ob das Modell der Gewebekultur von Hirnschnitten für weiterführende Experimente genutzt werden kann.