

**Redaktion**

A. Radbruch, Berlin  
 G.-R. Burmester, Berlin

**F. Melchers<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie, Senior Research Group  
 „Lymphozytenentwicklung“, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte  
<sup>2</sup> Biozentrum, Dept. of Cell Biology, Universität Basel, Schweiz

# Von der Stammzelle zum Lymphozyten

**Dieser Artikel beschreibt – in vereinfachter Form – die wichtigsten Stadien der Blutzellentwicklung, speziell der Haupt-Subpopulationen des adaptiven Immunsystems, der Lymphozyten.**

## Stammzellen des blutbildenden Systems und ihre „Nischen“

Alle blutbildenden Zellen einer Maus oder eines Menschen entstehen aus pluripotenten hämatopoietischen Stammzellen (pHSC). Transplantationen solcher Zellen in letal bestrahlte Rezipientenmäuse haben gezeigt, dass eine einzige pHSC in der Lage ist, die über  $10^9$  Zellen der verschiedenen Differenzierungsformen von Blutzellen – also rote Blutkörperchen, Megakaryozyten und Blutplättchen, myeloide Zellen (Leukozyten) wie Monozyten, Makrophagen, dendritische Zellen, Osteoklasten, Eosinophile, Basophile, Neutrophile und Mastzellen (Granulozyten), wie auch natürliche Killerzellen, T- und B-Lymphozyten – zu bilden ([20]; [Abb. 1](#)).

### Erläuterung zu Abbildung 1

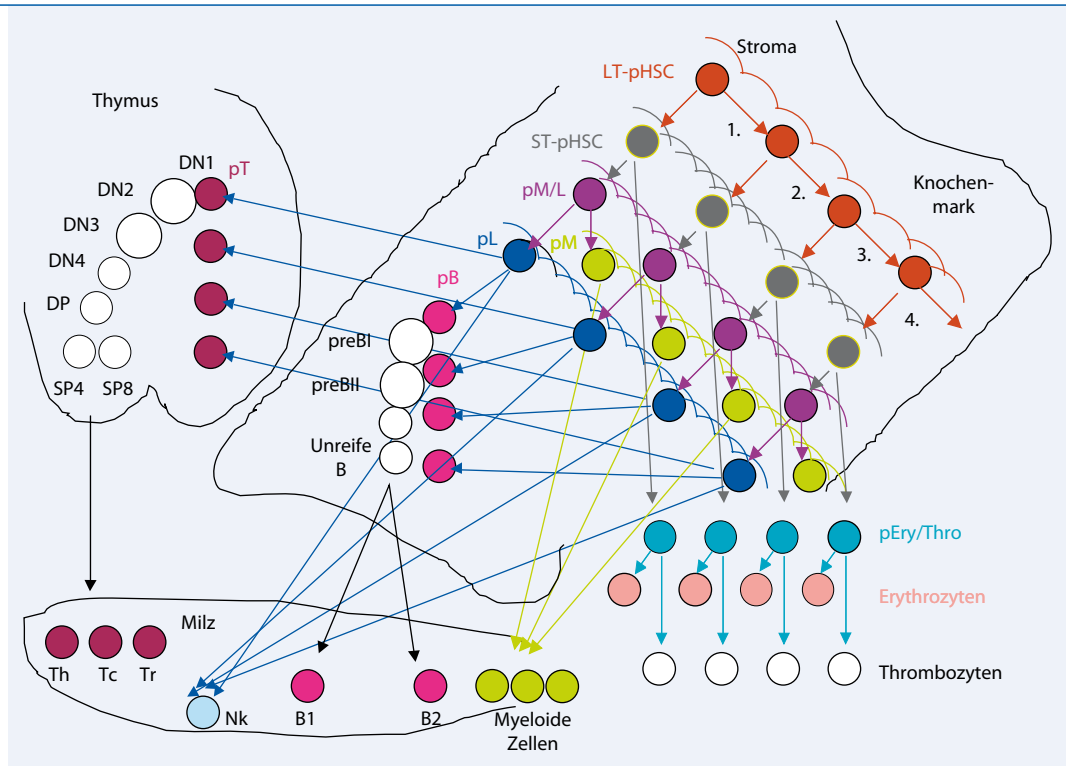
Diese zeigt das Modell der hämatopoietischen Stammzellendifferenzierung. Langzeitig funktionelle, pluripotente hämatopoietische Stammzellen (LT-pHSC), in Kontakt mit nichthämatopoietischen Stromazellen in hämatopoietischen Nischen des Knochenmarks teilen sich asymmetrisch (gezeigt sind 4 Teilungen), so dass nach Teilung eine Tochterzelle, in Kontakt mit der richtigen Nische, eine LT-pHSC bleibt, während die zweite Tochter-

zelle, vielleicht in einer geänderten Nische, ihre Langzeitfunktion verliert, aber kurzzeitig („short-term“, ST) noch pluripotent ist (ST-pHSC; auch MPP in [11] genannt). Nach weiterer Teilung dieser ST-pHSC (hier nur eine Teilung in 2 verschiedenartig differenzierte Zellen gezeigt) entstehen durch unterschiedliche Differenzierungen in wiederum unterschiedlichen Nischen Progenitoren der Blutkörperchen und Blutplättchen (erythroide und megakaryozytäre Progenitoren, pE) und Progenitoren der myeloiden und lymphoiden Zellen (pM/L; in [22] haben die MPP identische Eigenschaften mit den ST-pHSC in dieser Abbildung. Im Gegensatz zum hier gezeigten Modell sind MPP auch die Progenitoren von Erythrozyten und Blutplättchen). In wiederum unterschiedlichen Nischen spezialisieren diese Zellen sich dann weiter, so dass Progenitoren entstehen, die nur noch myeloide Zellen (pM) – in [22] CMP genannt – bzw. nur noch lymphoide Zellen – pL in [22] CLP genannt – bilden können. Die im Knochenmark verbleibenden lymphoiden Progenitoren werden zu B-Zell-Vorläuferzellen (pB), die beginnen, Rearrangements der IgH-Loci in den pre-BI-Zellen und danach der Ig-L-chain-Loci in pre-BII-Zellen einzugehen, so dass am Ende sIg<sup>+</sup> unreife B-Zellen entstehen, die dann aus dem Knochenmark in die Milz (B<sub>2</sub>) und in das Magen-Darm-Trakt-assoziierte lymphoide System (B<sub>1</sub>) wandern (s. auch [Abb. 3](#)). Ein anderer Teil der lymphoiden Progenitoren wandert in den Thymus (pT), wo er über die CD44<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>DN1<sup>-</sup>, CD44<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>DN2<sup>-</sup>, CD44<sup>-</sup>CD25<sup>+</sup>DN3<sup>-</sup> und CD44<sup>-</sup>CD25<sup>-</sup>

DN4<sup>-</sup>Thymozytenstadien zu CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-DP-Zellen differenzieren und dabei die T-Zell-Rezeptorgen-Loci der TcRβ- und -α-, sowie TcRγ- und -δ-Ketten, wiederum stufenweise geordnet rearrangieren. Danach werden SP-CD4<sup>+</sup>- und SP-CD8<sup>+</sup>-Zellen sowie regulatorische T-Zellen selektioniert (vgl. [Abb. 2](#)).

Das hier gezeigte Modell der hämatopoietischen Zelldifferenzierung ist besonders in der Darstellung der relativen Zahlen der verschiedenen Differenzierungsformen in den verschiedenen Nischen nicht korrekt und berücksichtigt nicht, dass sich auch spätere Differenzierungsformen, d. h. ST-pHSC, pM/L, pM, pL usw. durch asymmetrische (und auf Aufforderung auch symmetrische) Zellteilungen selbsterneuern müssen. In Wirklichkeit sind im jungen Knochenmark einer Maus zwischen 104 und 105 pHSC, aber sicher höhere Mengen von pL und pM vorhanden, so dass z. B. rund 2-mal 106 pre-BI-Zellen kontinuierlich vorhanden sind, aus denen B<sub>1</sub>- und B<sub>2</sub>-Zellen werden [14].

Da alle diese Zellen eine begrenzte Lebensdauer – zwischen wenigen Tagen und Wochen – im Organismus haben, bedeutet das gleichzeitig, dass die pHSC, und vielleicht einige von ihnen abstammende Progenitorzellen mit teilweise eingeschränkten Differenzierungspotenzialen (z. B. nur für rote Blutkörperchen und Blutplättchen, nur für lymphoide plus myeloide Zellen, nur für myeloide oder lymphoide Zellen), eine kontinuierliche, lebenslange Neuproduktion von Zellen bewerkstelligen können. Also lassen sich diese pHSC und die Progenitorzellen mit



**Abb. 1** ▶ Die Entwicklung der blutbildenden Zellen, speziell der Lymphozyten, aus pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen (pHSC) im Knochenmark über die Progenitorzellen (pM/L, pL, pB) in „Nischen“ von mesenchymalen Zellen, zu T-Zellen im Thymus und zu antigenreaktiven Zellen in der Milz (Details s. Text)

denselben Eigenschaften auch aus den transplantierten Empfängern wiedergewinnen und wieder transplantieren. Deshalb werden solche pHSC auch langfristig funktionelle („long-term“, LT pHSC) pHSC genannt.

Zu den wichtigen Zytokinen, die Wachstum und Überleben von pHSC fördern, gehören der Stammzellfaktor (der Ligand für die Rezeptor-Tyrosinkinase c-kit), Thrombopoietin, Interleukin- (IL-)3 und IL-6 [5, 11]. Viele Versuche weisen darauf hin, dass solche pHSC und die sie fördernden Zytokine in sogenannten „Nischen“, in spezialisiertem Stroma des Knochenmarks zu finden sind, das von mesenchymalen Stammzellen abstammt.

Hämatopoetische Stammzellen haben also fünf wichtige Eigenschaften:

1. Sie selbsterneuern sich durch Zellteilung.
2. Sie sind pluripotent für die Entwicklung aller Differenzierungsformen von Zellen des Bluts.
3. Nach Transplantation finden sie den Weg im Körper zu ihren „Nischen“ im Knochenmark und verbleiben dort für den Rest des Lebens.
4. Auch im transplantierten Empfänger behalten diese Stammzellen die unter 1., 2. und 3. beschriebenen Eigenschaften.

5. Sie schützen durch ihre Regenerationsfähigkeit im transplantierten Rezipienten diesen vor dem Strahlentod.

### Spezialisierte Progenitoren mit eingeschränkten hämatopoetischen Potenzialen

Geschätzte  $10^4$  bis  $10^5$  pHSCs im Knochenmark einer jungen Maus bilden täglich zwischen  $10^6$  bis  $10^7$  Lymphozyten und eine mindestens ebenso hohe Anzahl von roten Blutkörperchen, Blutplättchen und myeloide Zellen. Das bedeutet, dass nicht nur pHSCs, sondern auch die späteren Progenitoren in größeren Mengen vorhanden sein müssen, um diese etwa tausendfach höhere Anzahl von Zellen kontinuierlich produzieren zu können (Abb. 1).

Progenitoren mit der Fähigkeit, myeloide wie auch lymphoide Zellen zu entwickeln (pM/L; MPP in [1, 11]), finden sich wie die pHSCs im Knochenmark. Ihre Proliferation und ihr Überleben wird insbesondere durch das Zytokin FLT3-L (flt3-Ligand) gefördert [5].

Wenn diese pM/L mit den Zytokinen M-CSF, GM-CSF und G-CSF in Kontakt kommen, werden sie zur myeloide Differenzierung induziert und verlieren die Fähigkeit, lymphoide Differenzierung zu

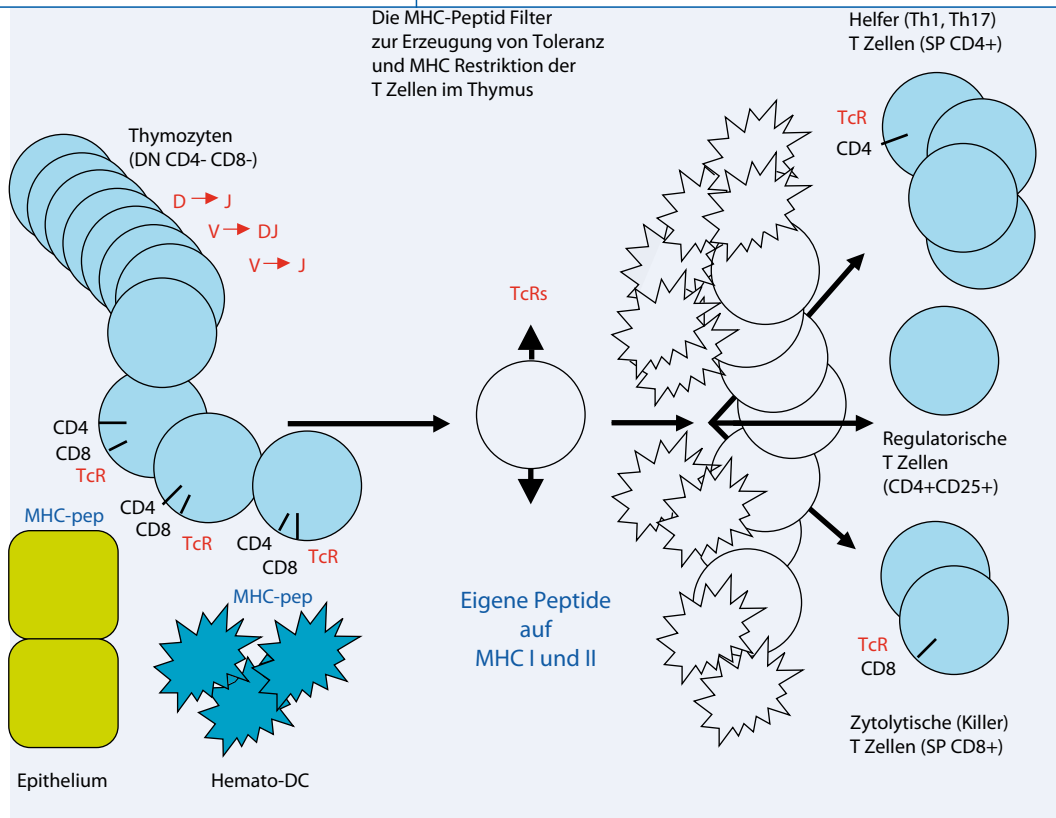
verfolgen. Umgekehrt bewirkt der Kontakt mit dem Zytokin IL-7 die Fixierung auf lymphoide Differenzierung und den gleichzeitigen Verlust von myeloide Differenzierungsfähigkeit. Auch hier vermuten wir die Existenz spezieller „Nischen“ mesenchymaler Zellen für diese Differenzierung, wissen aber relativ wenig von ihrer zellulären Natur.

Die lymphoide Progenitoren, die im Knochenmark verbleiben, differenzieren weiter zu B-Lymphozyten. Auch zu natürlichen Killer-Lymphozyten können sie dort differenzieren, während andere lymphoide Progenitoren das Knochenmark verlassen, in den Thymus wandern und dort zu T-Lymphozyten differenzieren. Das Knochenmark hat also B-Lymphozyten-entwickelnde „Nischen“, der Thymus solche, die die T-Zell-Entwicklung induzieren.

### Die Bildung der Repertoires von antigenspezifischen Rezeptoren auf Lymphozyten

Frühe Stadien der B-Lymphozyten-Entwicklung lassen sich anhand der Segment-Rearrangement-Stadien der Gene der schweren (H) und leichten (L) Ketten von Immunglobulinen (Ig, Antikörper, B-Zell-Rezeptor/BcR) und der dafür not-

Die MHC-Peptid Filter zur Erzeugung von Toleranz und MHC Restriktion der T Zellen im Thymus



**Abb. 2** T-Zell-Entwicklung im Thymus und T-Zell-Rezeptor-Selektion auf MHC-I- und -II-Peptid-Komplexen (für weitere Details s. den Text und [7, 23])

wenigen Enzyme (genannt RAG 1 und 2; [17]) voneinander unterscheiden – wie das auch bei früher T-Lymphozyten-Entwicklung zur Bildung von T-Zell-Rezeptoren (TcR) möglich ist ([13, 14, 18, 19]; **Abb. 2, 3**). Dabei werden zuerst die RAG-1- und -2-Enzymproduktion aktiviert und die Ig- bzw. TcR-Genloci geöffnet, so dass sie in (erst sterile) RNA transkribiert werden können. Dann beginnt ein geordnetes, stufenweises Rearrangement von DNA-Segmenten: Zuerst werden D- auf J-Segmente im IgH-Lokus (wie auch D auf J im TcRβ-Lokus), danach V- auf DJ-Segmente im IgH-Lokus (wie auch V auf DJ im TcRβ-Lokus) und endlich V- auf J-Segmente im IgL-Lokus (wie auch V auf J im TcRα-Lokus) rearrangiert.

### Erläuterung zu Abbildung 2

Die nach produktiven V(D)J-Rearrangements der TcRβ-, und danach TcRα-loci, α/β-TcR-exprimierenden CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-DP-Thymozyten (s. auch **Abb. 1**) werden in Kontakt mit 2 Typen von MHC-Klasse-I- und -II-exprimierenden Zellfiltern (epitheliale und dendritische Zellen [3]) gebracht. Die MHC-Moleküle halten in ihren peptidbindenden Gräben die Peptideprozessierter Eigenantigene (Proteine

der im Thymus exprimierten körpereigenen Strukturen) gebunden. Hoch-avid interagierende Thymozyten werden durch programmierten Zelltod (Apoptose) eliminiert, nieder-avid interagierende Zellen dagegen durch zusätzlichen Kontakt von CD4 mit MHC II oder von CD8 mit MHC I zu SP-CD4<sup>+</sup>-naiven Helfer-T-Zellen bzw. zu SP-CD8<sup>+</sup>-T-Zellen selektioniert und differenziert. Thymozyten ohne Avidität für MHC werden ignoriert und sterben ebenfalls im Thymus. Die auf nieder-avide MHC-I- oder -II-Autoantigen-Peptid-Komplexe positiv selektionierten, damit in ihrer TcR-Erkennungsfähigkeit auf MHC-Peptid-Komplexe „restringierten“ T-Zellen, wie auch die im Thymus ebenfalls differenzierten CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>-regulatorischen T-Zellen verlassen als einzige den Thymus, um in der Milz und in anderen peripheren lymphoiden Organen zu Effektor- und Gedächtnis-T-Zellen weiterzudifferenzieren.

### Erläuterung zu Abbildung 3

Abbildung 3 zeigt die Bildung des Repertoires der BcR- (Ig-) exprimierenden B-Zellen im Knochenmark. Eine Progenitor-B-Zelle (pB, s. auch **Abb. 1**) beginnt, die Enzyme (RAG 1 und 2) für die

Rearrangements der IgH- und L-Ketten-Loci (im Thymus der TcRα-, -β-, -γ- und -δ-Loci, s. **Abb. 2**) zu produzieren und damit zuerst DJ/DJ-rearrangierte pre-BI-Zellen zu bilden. Sobald diese Zellen V- auf DJ-Segmente zu rearrangieren beginnen und dabei IgH-Kette (H) produzieren können, kann diese H-Kette sich mit einer schon vorher gebildeten surrogaten L-Kette (SL) zum Pre-B-Zell-Rezeptor (preBcR) vereinen. Dieser PreBcR signalisiert der pre-BII-Zelle, sich zu teilen und gleichzeitig die Produktion von SL-Ketten einzustellen. Durch diese Zellteilungen verdünnt sich also der PreBcR aus und die Pre-BI-Zelle hört auf, sich zu teilen. Während dieser PreBcR-induzierten Zellproliferation sind die RAG-Enzyme ausgeschaltet, um weitere Rearrangements am anderen IgH-Allel zu verhindern. Die zur Ruhe gekommene pre-BII-Zelle schließt das zweite H-Ketten-Allel, öffnet die κL- und λL-Ketten-Allele und reexprimiert die RAG-Rearrangementenzyme. Produktiv rearrangierte L-Ketten-Loci produzieren L-Ketten, die sich mit den vorher schon vorhandenen H-Ketten zu BcR (Ig) verbinden, die auf der Oberfläche deponiert werden (sIg). Unreife sIg<sup>+</sup>-Zellen,

F. Melchers

### Von der Stammzelle zum Lymphozyten

#### Zusammenfassung

Zwei Typen von pluripotenten Stammzellen sind die Ursprünge der Zellen des angeborenen und des adaptiven Immunsystems wie auch von essenziellen Elementen kooperierender Umgebungen dieses Systems. Pluripotente hämatopoietische Stammzellen und die ihnen untergeordneten, subspezialisierten Progenitorzellen bilden – ein Leben lang – die roten Blutkörperchen, Blutplättchen, myeloiden und lymphoiden Zellen dieses kontinuierlich sich erneuernden Zellsystems. Pluripotente mesenchymale Stammzellen generieren, neben anderen Typen von differenzierten Zellen, Chondrozyten, epitheliale Zellen, Adipozyten und Osteoblasten. Dieses Osteoblasten produzieren nicht nur Knochen, die primären Orte für die hämatopoietische Zellentwicklung, sondern sie interagieren auch direkt mit den hämatopoietischen Stammzellen und Progenitorzellen – wie auch mit dem reifen, antigen-erfahrenen

„Gedächtnis“-Typ von Lymphozyten, die nach erfolgreichen Kämpfen mit Antigenen an die Stelle ihres Ursprungs zurückkehren. Diese Interaktionen geschehen durch Zell-Zell-Kontakte wie auch durch Zytokin-Zytokinrezeptor-Erkennungen in sogenannten „Nischen“ und induzieren und leiten die Entwicklungen der hämatopoietischen Zellen. Diese frühen Phasen der hämatopoietischen Entwicklung sind antigenunabhängig, weil die Zellen des adaptiven Immunsystems, die Lymphozyten, noch keine antigenspezifischen Rezeptoren entwickelt haben. Sobald diese Zellen aber T-Zell- und B-Zell-Rezeptoren für Antigen exprimieren, werden sie dem Druck von negativer und positiver Selektion ausgesetzt, erst von Autoantigenen in den primären lymphoiden Organen, dann, nach Reifung und Wanderung in die sekundären lymphoiden Organe, auch von externen, fremden Antigenen. Die Repertoire dieser Lymphozyten, die TcR und

BcR exprimieren, adaptieren also an die Umgebung von Antigenen des eigenen Körpers, und an die der externen, fremden Einflüsse. Während Zell-Zell-Kontakte mit kooperierenden nichthämatopoietischen wie auch hämatopoietischen Zellen, und Zytokin-Zytokinrezeptor-Interaktionen weiterhin die zellulären Reaktionen induzieren, die zu Proliferation, Differenzierung und/oder programmiertem Zelltod (Apoptose) der reifen hämatopoietischen Zellen führen können, sind diese Reaktionen jetzt aber durch die spezifischen Kontakte von Antigen mit den antigenspezifischen Rezeptoren, TcR's und BcR's, dominiert.

#### Schlüsselwörter

Stammzellen · Hämatopoiese · Angeborenes und adaptives Immunsystem · Autoimmune Repertoires

### From stem cells to lymphocytes

#### Abstract

Two types of pluripotent stem cells form the origins of the cells of the innate and the adaptive immune system, as well as of essential elements of cooperating environments of this system. Pluripotent hematopoietic stem cells and their subordinated, sub-specialized progenitor cells develop, throughout life, the red cells, platelets, myeloid and lymphoid cells of this continuously regenerating cell system. Pluripotent mesenchymal cells generate, among other types of differentiated cells, chondrocytes, epithelial cells, adipocytes and osteoblasts. These osteoblasts not only produce bone, the primary location for the hematopoietic cell development, but also directly interact with the hematopoietic stem and progenitor cells – and also with the mature, antigen-experienced memory types

of lymphocytes which return after successful fights with antigens to the place of their origin. These interactions occur both by cell-cell contacts and cytokine-cytokine receptor recognitions in so-called “niches”, and induce and guide the developments of the hematopoietic cells. These early phases of hematopoietic development are antigen-independent, because the cells of the adaptive system, the lymphocytes, have not yet made antigen-specific receptors. As soon as these cells express T-cell and B-cell receptors for antigen they are subjected to negative and positive selection pressures, first by auto-antigens in the primary lymphoid organs, then after maturation and migration to secondary lymphoid organs, also to external, foreign antigens. The repertoires of these lymphocytes

expressing TcR and BcR adapt to the body's own, as well as external environmental, antigens. While cell-cell contacts with cooperating non-hematopoietic as well as hematopoietic cells, and cytokine-cytokine receptor interactions continue to induce the cellular responses resulting in proliferation, differentiation and/or programmed cell death (apoptosis) of the mature hematopoietic cells, such responses of lymphocytes are now dominated by the specific interactions of their antigen-specific receptors, TcRs or BcRs with antigens.

#### Keywords

Stem cells · Hematopoiesis · Innate and adaptive immune system · Autoimmune repertoires

aber nicht sIg<sup>-</sup>-Zellen, dürfen das Knochenmark verlassen und wandern in die Milz (B2) und in die Magen-Darm-Trakt-assoziierten lymphoiden Organe (B1). Etwa 2/3 (über 65%) der unreifen B-Zellen haben nach einem einzigen VJ-Rearrangement auf den L-Ketten-Genloci (L1) einen BcR produziert, behalten also die anderen L-Ketten-Allele in unrearrangierter Konfiguration. Zellen mit nichtproduktiv rearrangierten L-Ketten-Loci (Lo) können sekundäre, evtl. auch mehrere aufeinanderfolgende L-Ketten-Gen-Rearrangements am selben und auch an den anderen κL- und λL-Allelen (Lo-L1-Lx) und so versuchen, eine brauchbare L-Kette zu bilden, da die RAG-Enzyme nach wie vor exprimiert bleiben. Unreife B-Zellen, die einen BcR produzieren, der hoch-avid autoreaktiv ist, können durch sekundäre Rearrangements (und evtl. auch durch VH-Austausche am H-Ketten-Lokus) versuchen, die Autoreaktivität ihres BcR zu Nicht-Autoreaktivität zu ändern (LI-x/L1-y), um damit dem BcR-induzierten programmierten Zelltod zu entgehen und in die peripheren lymphoiden Organe wandern zu können. Etwa ein Drittel der peripheren B-Zellen zeigen molekulare Spuren solcher sekundären L-Ketten-Gen-Rearrangements, die meisten von ihnen auf mehreren Allelen, so in über 90% auf beiden κL-Allelen.

Alle V(D)J-Gensegment-Rearrangements sind potenziell gefährlich, weil sie in (allerdings sehr seltenen) Fällen Translokationen auf andere Genloci bewirken können, die immer dann wirklich gefährlich geworden sind, wenn diese Translokation ein Onkogen (z. B. c-myc oder bcl-1 in B-Zellen) aktiviert dadurch, dass der Promotor des Ig- (oder TcR-) Genes jetzt die abnorme, transformierende Expression des Onkogens in B- (oder T-) Lymphozyten bewirkt.

Durch immer wieder nicht präzise verlaufende Verbindungen der Segmente und durch zusätzliches Einfügen von sogenannten N-Regionen an den V-D-J-Verfügungen (durch eine Exonuklease und das Enzym Terminale desoxynucleotid-Transferase, TdT) entstehen scheinbar endlos unterschiedliche, also endlos diverse BcR- und TcR-Moleküle, endlose Mengen von jeweils einer IgH+L- (bzw. TcRβ+α-) Kombination auf einem sich

entwickelnden, noch unreifen Lymphozyten. Also hat ein Lymphozyt immer nur einen Rezeptor, Millionen von Lymphozyten aber über Millionen verschiedener Rezeptoren auf ihrer Oberfläche zur Selektion durch ihre antigenpräsentierende Umgebung.

Die ursprünglich gebildeten Repertoires von Lymphozyten sind also scheinbar endlos divers, nur limitiert in der (immer wieder neu nachgebildeten) Anzahl von Lymphozyten im Immunsystem, immer bereit, alles möglich und unmöglich Erscheinende, fremde wie eigene Antigene zu binden und damit zu erkennen.

Das nicht präzise, durch das Einfügen der N-Region zusätzlich variierte Verfügen der Gensegmente lässt in über der Hälfte der Zellen IgH- und/oder IgL-Genloci (und also auch TcRβ- und TcRα-Loci) entstehen, bei denen das Ablesen des rearrangierten Lokus zu einer frühen, nicht kompletten Terminierung der Proteinsynthese führt, bei der also keine IgH- und/oder L-Ketten (bzw. TcRβ- und/oder α-Ketten) gemacht werden können. Diese Antigenrezeptor-losen Lymphozyten sterben in den primären Organen ab und erscheinen nicht in den sekundären Organen des Immunsystems.

Ist durch ein ablesbares Verfügen des IgH-Lokus (bzw. des TcRβ-Lokus) eine IgH-Kette (bzw. TcRβ-Kette) in einem präB- (bzw. präT-) Lymphozyten gebildet worden, dann wird diese erste Kette der späteren BcR- (oder TcR-) Kette durch eine surrogate L- (bzw. surrogate α-) Kette zu einem präB-Zell-Rezeptor (bzw. präT-Zell-Rezeptor) verbunden [15, 23]. Diese Prä-Lymphozyten-Rezeptoren signalisieren den Zellen, sich mehrere Male zu teilen, also das Repertoire der Zellen mit erfolgreichen, nützlichen IgH-Ketten (bzw. TcRβ-Ketten) zu expandieren, bevor IgL-Ketten- (bzw. TcRα-Ketten-) Genrearrangements induziert werden, also die zweite Kette des endgültigen BcR (oder TcR) gebildet wird.

Ist danach durch ein ablesbares Verfügen des IgL-Lokus (bzw. des TcRα-Lokus) eine IgL-Kette (bzw. TcRα-Kette) entstanden, und damit ein unreifer Lymphozyt, dann wird diese unreife Zelle einer Reihe von Selektionsprozessen unterworfen, die die Antigen-Rezeptor-Repertoires auf ihre Reaktivität mit (in diesen primären

lymphoiden Organen vorhandenen) Autoantigenen testet.

## T-Zell-Entwicklung im Thymus

In den primären lymphoiden Organen der Lymphozytenentwicklung, also auch im Thymus (wie auch im Knochenmark), werden Autoantigene präsentiert ([3, 13]; **Abb. 2**). Ist die Interaktion eines TcR auf einem unreifen T-Lymphozyten stark, d. h. hoch-avid, dann wird dieser unreife Lymphozyt getötet: Die Rezeptor-Autoantigen-Bindung induziert programmierten Zelltod (Apoptose). Also wird das Repertoire der sich laufend entwickelnden neuen T-Lymphozyten ständig „negativ selektioniert“.

Die verbleibenden, die Autoantigene schwach oder gar nicht erkennenden Lymphozytenpopulationen werden danach weiter selektioniert. Den Thymus verlassen dürfen nur T-Zellen mit TcR, die die Proteine des „Major Histocompatibility Complex“ (MHC) der Klasse I oder II in speziellen Nischen, d. h. auf antigenpräsentierenden Zellen mit niedriger Avidität, erkennen können. Dabei enthalten die MHC-I- und -II-Moleküle die unterschiedlichsten Peptide und manchmal auch andere kleinere Moleküle (z. B. Lipide) von Autoantigenen, die in den antigenpräsentierenden „Nischen“-Zellen durch Proteolyse prozessiert worden sind. Solche „nieder Autopeptid/MHC“-aviden T-Lymphozyten werden im Thymus also „positiv selektioniert“.

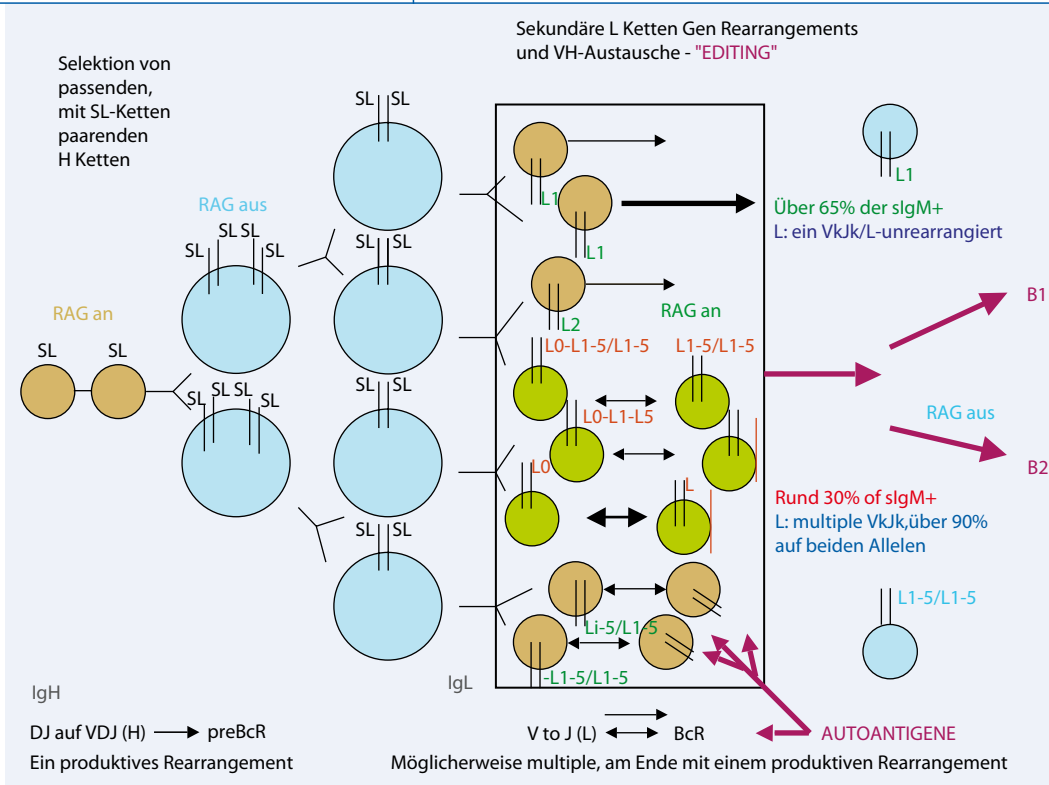
### ➤ Ist die Interaktion eines TcR auf einem unreifen T-Lymphozyten hoch-avid, wird der unreife Lymphozyt getötet

Gleichzeitig induziert die TcR-MHC-Interaktion weitere Differenzierungen, so dass nach Interaktionen mit MHC I/Peptid zytolytische T-Zellen (Killer-T-Zellen, Tc) und nach solchen mit MHC II/Peptid Helfer-T-Zellen (Th) entstehen. Außerdem entstehen im Thymus regulatorische Zellen, deren genaue Repertoireselektion bisher nicht vollständig aufgeklärt ist, von denen wir aber annehmen, dass auch sie auf MHC-Molekülen selektioniert werden [12].

Hier steht eine Anzeige.







**Abb. 3** B-Zell-Entwicklung im Knochenmark und B-Zell-Rezeptor- (Ig Immunoglobulin-) Selektion (für weitere Details s. den Text und [14, 15])

### Wanderung der T-Zellen vom Thymus in die Milz

Die so auf MHC-I- oder -II-Protein-Peptid-Komplexen selektionierten, naiven T-Zellen wandern in die T-Zell-reichen Gebiete der Milz ein, die sich besonders in der Nähe der zentralen Arteriole finden. Über den primären Aufbau der lymphoiden Bereiche des Magen-Darm-Trakts ist bisher nur wenig bekannt. Naive T- und B-Zellen sammeln sich also in getrennten Gegenden der Milz und scheinen nur an den Rändern dieser Bereiche in Kontakt miteinander zu sein. Hier, in den peripheren sekundären lymphoiden Organen in der Milz und danach in den Lymphknoten entwickeln sie sich weiter in zusätzlich funktionell spezialisierte T-Zell-Subpopulationen.

Wiederum spielen die Interaktionen der T-Lymphozyten mit „Nischen“ von antigenpräsentierenden Zellen Differenzierungs-induzierende Rollen, bei denen Chemokine spezielle Zell-Zell-Kontakte herbeiführen, die mit den gleichzeitig in solchen „Nischen“ gebildeten löslichen Zytokinen (durch Stimulation spezifischer Rezeptoren) Ketten von Signaltransduktionsreaktionen in den Lymphozyten (und auf der anderen Seite si-

cher auch in den antigenpräsentierenden Nischenzellen) auslösen.

Die Folge sind Veränderungen von Genexpressionen in den Lymphozyten (und Nischenzellen), die damit ihre Teilungsfähigkeit, ihre Differenzierungsstadien und ihre Funktionen ändern können. So bewirken die Zytokine IL-2 und IL-15 die Differenzierung von natürlichen Killer-(NK-) Zellen. Das Zytokin IL-2 stimuliert die Proliferation von naiven T-Zellen und von regulatorischen T-Zellen. Naive T-Zellen können danach durch die Zytokine IL-12 und Interferon- (IFN-)γ zu Helfer-T-Zellen des Typs Th1 oder durch das Zytokin IL-17 zu Helfer-T-Zellen des Typs Th17 oder durch das Zytokin IL-4 (und manchmal IL-5) zu Helfer-T-Zellen des Typs 2 weiter spezialisiert, „polarisiert“, werden.

### Repertoireselektion von B-Lymphozyten

Unreife B-Zellen, die ein Autoantigen in der Umgebung des Knochenmarks mit hoher Bindungsfähigkeit (Avidität) erkennen, bekommen durch diese Bindung signalisiert, dass sie durch programmierten Zelltod (Apoptose) sterben werden [9, 16]. Hochavide Autoantigen-spezifische B-Lymphozyten werden also „negativ selektioniert“.

Dabei hat solch eine unreife B-Zelle eine (wahrscheinlich zeitlich sehr begrenzte) Chance, dieser Autoreaktivität dadurch zu entgehen, dass sie umgehend ein weiteres Rearrangement des L-Ketten-Lokus durchführt, bei dessen Bildung das ursprüngliche (zur Autoreaktivität vielleicht beitragende) VJ-rearrangierte Genteil eliminiert und durch ein sekundäres (vielleicht nicht mehr autoreaktives) VJ-Segment ersetzt wird ([4, 7]; **Abb. 3**. Entsprechendes gilt für den TcRα-Lokus; **Abb. 2**).

Auch diese Selektionsprozesse von unreifen B-Lymphozyten finden wohl in einer zellulären Umgebung statt, deren Natur jedoch bisher nicht gut bekannt ist. Anhand von genetischen Analysen von Autoimmunerkrankungen, besonders von Lupus erythematodes [6], vermuten wir, dass in dieser Umgebung die Komplementkomponenten C1q, C2 und C4, einige Toll-like-Rezeptoren (TLR 2,4,9) sowie IgM-Moleküle mit unbekanntem Spezifitäten bei Repertoireselektionen eine wichtige Rolle spielen dürften.

### B-Zell-Wanderung vom Knochenmark in die Milz

B-Lymphozyten, die diese Selektionsprozesse überleben, verlassen als BcR- (Ig-

Oberflächen-positive B-Zellen das Knochenmark, wandern in die Marginalzone der Milz und danach in die folliculären Anreicherungen von B-Zellen [2]. Eine andere Population von B-Zellen (BI-Zellen) besiedeln die Bereiche nahe der sogenannten M-Zellen im glatten Epithel der Magenschleimhaut, durch die manche Antigene vom Magen in die lymphozytenreichen folliculären Strukturen in den körperinneren Regionen geraten können. Andere werden selektioniert, in den epiphelialen Bereichen der Haut und des Magen-Darm-Trakts zu erscheinen [22]. Auch bei diesen Zelselektions- und -sortierungsprozessen spielen chemokingelenkte, Zell-Zell-Kontakte und zytokinabhängige Signaltransduktionen zwischen B-Lymphozyten und ihrer „Nischen“-Umgebung wichtige Rollen.

Zwei wichtige Zytokine bei diesen B-Zell-Selektions- und -Reifungsprozessen sind BAFF und APRIL [21]. BAFF induziert kurzlebige, naive, neugebildete B-Lymphozyten, besonders in der Milz, zu Langlebigkeit. Damit erhöht BAFF auch die Überlebenschance von antigenaktivierten, proliferierenden B-Zellen in den Keimzentren einer Immunreaktion, verstärkt also diese Reaktion. Zudem scheint BAFF die Eliminierung von autoantigenhoch-avid-reaktiven B-Zellen durch eine Inhibition des programmierten Zelltods zunichte machen können. Deshalb wird angenommen, dass die erhöhten Mengen von BAFF im Blut von genetisch zur Autoimmunität vorprogrammierten, von einer Lupus-ähnlichen Erkrankung Betroffenen, ein wichtiger Kofaktor der Krankheitsentwicklung sind, die die negative Selektion autoreaktiver B-Zellen verhindern und ihre folgende Immunreaktion gegen Autoantigene verstärken.

### Das Rätsel der Eigen- und Fremdanigeneinflüsse auf das adaptive Immunsystem

Sobald Lymphozyten BcRs oder TcRs gebildet haben und auf ihrer Oberfläche als Rezeptoren deponieren, werden sie durch die „weite Welt“ der verschiedensten chemischen Strukturen, „eigen“ oder „fremd“, beeinflussbar, weil sie eine scheinbar endlose Diversität solcher Rezeptoren bilden können. Negative Selektionsprozesse in

den primären lymphoiden Organen verhindern sicher den „Horror autotoxicus“ von hoch-aviden BcRs und TcRs gegen Autoantigene. Dennoch ist nicht auszuschließen, dass eine „Restaktivität“ gegenüber Autoantigenen übrig bleibt, die zwar kurzlebig sein kann, da auch die gebildeten Lymphozyten zunächst kurzlebig sind, die jedoch ständig durch neue „Restaktivitäten“ ersetzt werden.

Gefährlich wird es, wenn die BcR- und TcR-induzierte Signaltransduktion die Grenzen von negativer und positiver Selektion und des Ignorierens von Lymphozyten verschiebt, so dass höher-avid autoreaktive Zellen nicht negativ selektioniert werden. Solche Änderungen mögen erblich sein, aber sie können auch in einzelnen Zellen durch somatische Mutationen entstehen, also Klone von autoreaktiven Lymphozyten generieren. Wenn solch eine Änderung mit der Differenzierung (oder Mutation) zu Langlebigkeit dieser Lymphozyten als zweite, stabile Änderung stattfindet, dann wird die potenzielle Autoreaktivität chronisch. Eine chronische, unregulierte Aktivierung der „Nischen“, genetisch bedingt oder durch Infektion ausgelöst, kann sehr wohl die Entwicklungsprozesse der Zellen des angeborenen und des adaptiven Immunsystems so ungünstig beeinflussen, dass langlebige myeloide und lymphoide Zellen mit somatisch-genetisch veränderten Wachstums- und Differenzierungseigenschaften entstehen. Auch das könnte autoimmunitätsfördernde Folgen haben.

Die Induktion von Langlebigkeit, d. h. die aktive Verhinderung von programmiertem Zelltod, ist an vielen Stellen sicher eine autoimmune Gefahr. Sie tritt als normale, unmutierte Änderung der Lebenserwartung von Lymphozyten immer dann auf, wenn ein fremdes Antigen, z. B. eine Infektion, solche nieder-avid autoreaktiven, hoch-avid fremdanigen „kreuzreaktiven“ Lymphozyten aktiviert. Bei T-Lymphozyten dieser Reaktionsfähigkeit bleibt die potenzielle Entwicklung von Autoreaktivitäten besser kontrolliert, da die TcR-Gene während einer Immunantwort nicht hypermutieren, sondern „nur“ zu besseren „Helfer-“ und zytotoxischen Funktionen „polarisieren“. Bei B-Lymphozyten ist die Gefahr der Entwicklung von hoch-avider, langlebiger Auto-

reaktivität viel größer, da eine Helfer-T-Zellabhängige B-Zell-Aktivierung in „Keimzentren“ nicht nur die Langlebigkeit, sondern auch die Hypermutation der V(D)J-rearrangierten IgH- und -L-Ketten, besonders in den V-regionen, induziert.

Auch die antigenpräsentierenden Zellen des angeborenen Immunsystems können, wie schon erwähnt, ihre Eigenschaften ändern. Ist das Autoantigen in solch einem Keimzentrum „mit von der Partie“ (des fremden Antigens), dann kann es gefährlich werden, wenn nicht nur das fremde Antigen, sondern auch das Autoantigen die zu ihm besser passenden (höher aviden) BcRs auf B-Lymphozyten positiv selektioniert. Wiederum: Wenn solche Änderungen zu Langlebigkeit der Lymphozyten entweder erblich sind oder durch somatische Mutationen stabilisiert werden, dann ist die Gefahr von chronischer Autoimmunität gegeben.

Wenngleich wir erwarten, dass regulatorische T-Zellen, wie der *Deus ex machina*, die potenziell autoimmunen Antworten des Systems bei gewollten (Vakzinierungen) und ungewollten (Infektionen) Reaktionen des Systems – also gewollte Immunität gegen das Fremde und ungewollte Immunität gegen das Eigene – kontrollieren können, so sind doch die Antigenrezeptorrepertoires dieser regulatorischen Zellen ebenso divers wie die ihrer zu regulierenden Helfer- und Killer-T-Zellen und -B-Zellen. Also sind z. B. mutierte Signaltransduktionen ebenso potenziell autoimmunitätsinduzierend, wenn sie die Repertoireselektion zur nieder-aviden Autoantigenerkennung verschieben. Es ist vorhersagbar und heute auch schon klar, dass die Balance zwischen Toleranz und Inaktivität gegen Autoantigene auf der einen Seite und Immunreaktion und Gedächtnis auf der anderen Seite an vielen zellulären und molekularen Stellen gestört werden können.

Da die Beeinflussung von Lymphozytenrepertoires mit der Entstehung von noch unreifen Lymphozyten in den primären Organen beginnt, kann auch das Gegenteil der ungewünschten Immunreaktivität, nämlich eine „Unreaktivität“ entstehen. Es ist seit Langem bekannt, dass das – in den bekannten Fällen experimentell induzierte – Erscheinen eines



fremden Antigenen in den primären lymphoiden Organen, besonders im Thymus, aber auch im Knochenmark, zur Induktion von Toleranz gegen dieses fremde Antigen führt. Ein Teil dieser Toleranzinduktion besteht in der negativen Selektion hoch-avidier Lymphozyten mit Spezifität für das fremde Antigen. Das mag einer der Gründe sein, warum es so schwer ist, gegen bestimmte, im Körper persistierende Infektionen (wie z. B. Tuberkulose) mit einer Impfung protektive Immunität zu entwickeln.

### Von der Stammzelle zum Lymphozyten – bei Maus und Mensch

Es ist beeindruckend, wie vergleichbar die frühen Entwicklungsstadien der hämatopoetischen Zellentwicklung bei Maus und Mensch sind [8]. Die Zahl der pHSC, pM/L, pL, der frühen Vorläuferzellen bis zum unreifen B-Lymphozyten im Knochenmark, wie auch der frühen Vorläuferzellen bis zu unreifen T-Lymphozyten im Thymus sind, relativ zum Gesamtkörpergewicht, nahezu gleich. Allerdings ändern sich hämatopoetische Aktivitäten und die Größe der Zellkompartimente, besonders die der frühen Stadien, mit dem Alter: Junge Hämatopoese ist durch höhere Mengen von pHSC und ihren subspezialisierten Progenitoren gekennzeichnet. Wir wissen also nicht ganz genau, welche Altersstufen einer Maus (von Tag 12 der embryonalen Entwicklung über die Geburt am Tag 19 bis zum Ende des Lebens nach 1 bis 2 Jahren) vergleichbar sind mit denen eines Menschen (von 2 Monaten der embryonalen Entwicklung bis zur Geburt nach 9 Monaten und bis zum Ende des Lebens). Auch sind die meisten Studien bei Mäusen mit Inzuchtstämmen in relativ frühen Altersstadien sicher in einer Lebenszeit gemacht, die bei genetisch unterschiedlichen Menschen nur in seltenen Fällen in einem vergleichbaren Alter durchgeführt werden.

Die frühen Stadien der Hämatopoese bleiben schon deshalb besser vergleichbar, weil z. B. das Knochenmark ein Leben lang dieselbe generelle Regenerierungsfähigkeit aus LT-pHSC behält. Auch werden bei Maus und Mensch oft die gleichen wichtigen molekularen Reaktionen für diese

Entwicklung benutzt: c-kit und SCF, FLT3-L und flt3, M-CSF und c-fms, IL7 und sein Rezeptor sind einige Beispiele solcher allgemein gültiger molekularer Prozesse. Auch die MHC-I- und -II-abhängige Selektion des T-Zell-Repertoires und natürlich die BcR- und TcR-Genloci und ihre Rearrangements sind konserviert.

Anders mag es sein, wenn die Moleküle der intrazellulären Signaltransduktion und der Regulation der Genexpression verglichen werden. Bei diesen Funktionen erscheint eine große Anzahl von Genprodukten in der Evolution von Maus und Mensch ausgetauscht und verschieden kombiniert worden zu sein [10].

Ob das auch für die Entwicklung unterschiedlich funktioneller Lymphozytensubpopulationen der Fall ist, bleibt ein faszinierendes Problem der Evolution der Immunsysteme verschiedener Spezies. Dabei bleibt es ein vielleicht nie völlig kontrollierbares Problem der Wirkung von Genotyp und Umwelteinfluss auf die Lymphozytenselektion, bei der eine genetisch unterschiedliche Evolution dieser beiden Spezies, aber auch die unterschiedlichen Umweltbedingungen ihrer Existenz sichtbare, aber noch weitgehend unverstandene Einflüsse haben.

### Korrespondenzadresse

Dr. rer. nat. Dipl. chem. F. Melchers



Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie, Senior Research Group „Lymphozytenentwicklung“, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte Charitéplatz 1, 10117 Berlin melchers@mpiib-berlin.mpg.de

**Interessenkonflikt.** Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

### Literatur

1. Akashi K, Traver D, Miyamoto T, Weissman IL (2000) A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages. *Nature* 404(6774):193–197
2. Allman D, Pillai S (2008) Peripheral B cell subsets. *Curr Opin Immunol* (2):149–157 [Epub 2008 Apr 21]
3. Banchereau J, Steinman RM (1998) Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 392(6673):245–252
4. Casellas R, Shih TA, Kleinewietfeld M et al (2001) Contribution of receptor editing to the antibody repertoire. *Science* 291(5508):1541–1544

5. Christensen JL, Weissman IL (2001) Flk-2 is a marker in hematopoietic stem cell differentiation: a simple method to isolate long-term stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(25):14541–14546 [Epub 2001 Nov 27]
6. Dörner T, Foster SJ, Farner NL, Lipsky PE (1998) Immunoglobulin kappa chain receptor editing in systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 102(4):688–694
7. Gay D, Saunders T, Camper S, Weigert M (1993) Receptor editing: an approach by autoreactive B cells to escape tolerance. *J Exp Med* 177(4):999–1008
8. Ghia P, ten Boekel E, Rolink AG, Melchers F (1998) B-cell development: a comparison between mouse and man. *Immunol today* 19(10):480–485
9. Hartley SB, Cooke MP, Fulcher DA et al (1993) Elimination of self-reactive B lymphocytes proceeds in two stages: arrested development and cell death. *Cell* 72(3):325–335
10. Hoffmann R, Lottaz C, Kühne T et al (2007) Neutrality, compensation, and negative selection during evolution of B-cell development transcriptomes. *Mol Biol Evol* 24(12):2610–2618 [Epub 2007 Sep 21]
11. Kondo M, Weissman IL, Akashi K (1997) Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow. *Cell* 91(5):661–672
12. Liston A, Rudensky AY (2007) Thymic development and peripheral homeostasis of regulatory T cells. *Curr Opin Immunol* 19(2):176–185 [Epub 2007 Feb 15]
13. Marrack P, Rubtsova K, Scott-Browne J, Kappler JW (2008) T cell receptor specificity for major histocompatibility complex proteins. *Curr Opin Immunol* 20(2):203–207 [Epub 2008 May 2]
14. Melchers F, Kincade P (2004) Early B cell development to a mature, antigen-sensitive cell. In: Honjo T, Alt FW, Neuberger M (eds) *Molecular biology of B cells*. Elsevier Academic Press, USA, pp 101–126
15. Melchers F (2005) The pre-B-cell receptor: selector of fitting immunoglobulin heavy chains for the B-cell repertoire. *Nat Rev Immunol* 5(7):578–584
16. Nemazee DA, Bürki K (1989) Clonal deletion of B lymphocytes in a transgenic mouse bearing anti-MHC class I antibody genes. *Nature* 337(6207):5626
17. Oettinger MA, Schatz DG, Gorka C, Baltimore D (1990) RAG-1 and RAG-2, adjacent genes that synergistically activate V(D)J recombination. *Science* 248(4962):1517–1523
18. Rolink AG, Schaniel C, Busslinger M et al (2000) Fidelity and infidelity in commitment to B-lymphocyte lineage development. *Immunol Rev* 175:104–111
19. Schlissel MS (2003) Regulating antigen-receptor gene assembly. *Nat Rev Immunol* 3(11):890–899
20. Spangrude GJ, Smith L, Uchida N et al (1991) Mouse hematopoietic stem cells. *Blood* 78(6):1395–1402
21. Stadnick JE, Cancro MP (2008) BAFF and the plasticity of peripheral B cell tolerance. *Curr Opin Immunol* 20(2):158–161 [Epub 2008 May 2]
22. Tung JW, Herzenberg LA (2007) Unraveling B-1 progenitors. *Curr Opin Immunol* 19(2):150–155 [Epub 2007 Feb 15]
23. von Boehmer H (2005) Unique features of the pre-T-cell receptor alpha-chain: not just a surrogate. *Nat Rev Immunol* 5(7):571–577