

Essentielle Rolle des Rel/NF- κ B Familienmitgliedes RelB bei der Entwicklung lymphoider Organe: spezifische Aktivierung durch den Lymphotoxin- β -Rezeptor

Z. B. Yilmaz, D. S. Weih, F. Weih, ITG

Adaptive Immunantworten benötigen sekundäre lymphoide Organe

Abwehrreaktionen des Immunsystems in Säugetieren lassen sich grob in angeborene und erworbene Immunantworten unterteilen. Im Gegensatz zur angebo-

renen Immunität, die vor allem von sog. Fresszellen vermittelt wird, zeichnet sich die erworbene (adaptive) Immunität unter anderem durch die hochspezifische Erkennung von Krankheitserregern bzw. Fremdanitigenen und durch ein immunologisches Gedächtnis aus. Eine effiziente adaptive Immunantwort gegen ein-

dringende Krankheitserreger wird von T- und B-Lymphozyten vermittelt, die in spezialisierten sekundären lymphoiden Organen, wie z.B. der Milz, den Lymphknoten und den Peyerschen Plaques, von professionellen antigenpräsentierenden Zellen aktiviert werden. In primären lymphoiden Organen, wie z.B. Thymus und Knochenmark, hingegen findet die Entwicklung und Reifung, aber keine Aktivierung von Lymphozyten statt.

Die Rel/NF- κ B Transkriptionsfaktoren

Die Rel/NF- κ B Proteine spielen eine bedeutende Rolle bei der Regulation von Genen, die Immunantworten, Stress- und entzündlichen Reaktionen steuern. In Säugetieren wurden bisher fünf Rel/NF- κ B Familienmitglieder beschrieben: die p50 Untereinheit, die durch Abspaltung von dem Vorläufermolekül p105 entsteht, die p52 Untereinheit mit dem Vorläufermolekül p100, sowie die Untereinheiten RelA, RelB und c-Rel. Die Bindung der Rel/NF- κ B Proteine an regulatorische Gensequenzen wird durch Mitglieder der inhibitorischen I κ B Familie moduliert. Durch die Interaktion mit den I κ B Molekülen werden Rel/NF- κ B Komplexe inaktiviert und im Zytoplasma zurückgehalten. Allerdings kann eine Vielzahl extrazellulärer Signale den I κ B-Kinase-Komplex (IKK) aktivieren, was über eine Reihe von Zwischenschritten letztendlich den Abbau der inhibitorischen Proteine bewirkt (siehe Abb. 1). Die Freisetzung der Rel/NF- κ B Komplexe führt nun zu deren Wanderung in den Zellkern

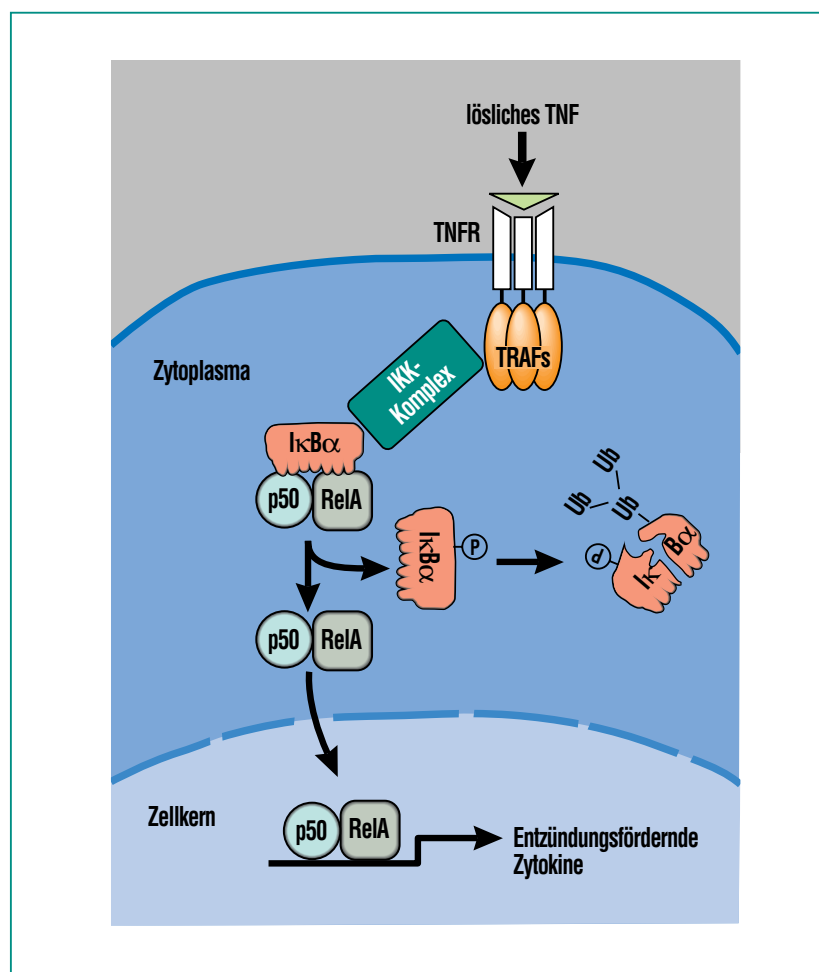


Abb. 1: Klassische Aktivierung des NF- κ B Signalübertragungsweges durch den Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptor (TNFR). Die Bindung von löslichen Liganden führt zur Aktivierung des Rezeptors und der TRAFs (TNFR associated factors). Die Phosphorylierung von I κ B α durch den aktivierten IKK-Komplex führt zur Ubiquitinierung des Inhibitormoleküls und zu dessen Abbau durch das 26S Proteasom. Die freigesetzten p50-RelA Heterodimere wandern in den Zellkern und regulieren die Synthese von z.B. entzündungsfördernden Zytokinen.

und zur Aktivierung von κ B-regulierten Genen [1, 2].

Die „klassische“ NF- κ B Aktivität besteht aus p50-RelA Heterodimeren, aber viele andere homo- und heterodimere Komplexe können abhängig von Zelltyp und Stimulus auftreten. Die RelB Unter-einheit bildet eine Ausnahme, da sie ausschließlich mit p50 oder p52 interagiert, um aktivierende Heterodimere auszubilden. In der Maus findet man das RelB Protein nur in bestimmten Bereichen lymphoider Organe. So besteht beispielsweise die basale NF- κ B Aktivität in Abwesenheit eines pathogenen Krankheitserregers in lymphoiden Organen hauptsächlich aus p50-RelB und p52-RelB Heterodimeren, was auf eine Rolle von RelB bei der konstitutiven Expression von κ B-regulierten Genen in diesen Geweben hinweist [3, 4].

RelB-defiziente Mäuse haben eine gestörte Entwicklung der Milz

Durch moderne molekulargenetische Methoden wurden einzelne Mitglieder der Rel/NF- κ B Familie in der Maus gezielt zerstört [5]. So zeigen beispielsweise RelB-defiziente Tiere (*relB*^{-/-}) neben einer eingeschränkten Immunität und Defekten im blutbildenden (hämatopoetischen) System auch deutliche pathologische Veränderungen, die verschiedenen Entzündungskrankheiten und Autoimmunreaktionen beim Menschen ähneln [6, 7]. Bei der Analyse der histopathologischen Veränderungen in der Milz von *relB*^{-/-} Mäusen konnten wir zeigen, dass diese Tiere nicht in der

Lage sind Keimzentren oder Netzwerke aus follikulären dendritischen Zellen auszubilden. Keimzentren lymphoider Organe sind Orte starker B-Zellvermehrung und -auslese während einer adaptiven Immunreaktion [8]. Die in den Keimzentren von follikulären dendritischen Zellen gebildeten Netzwerke fangen fremde Antigene ein und präsentieren sie für eine lange Zeit an ihrer Oberfläche, was für die Ausbildung eines immunologischen Gedächtnisses wichtig ist. RelB wird auch für die Ausbildung der marginalen Randzone benötigt [8]. Diese Struktur ist quasi der Haupteingang für Antigene, antigenpräsentierende Zellen und Lymphozyten in die Milz. Interessanterweise wurde ähnliche Defekte auch in p52-defizienten Mäusen beobachtet [9], während Mäuse, in denen die p50-Untereinheit von NF- κ B zerstört wurde, eine weitgehend normale Milzstruktur haben.

Mit Hilfe von Knochenmarktransfers konnte nachgewiesen werden, dass RelB in strahlungsresistenten stromalen Zellen, wie z.B. den follikulären dendritischen Zellen, und nicht in strahlungssensitiven hämatopoetischen Zellen für die Ausbildung von Keimzentren benötigt wird. Für die Ausbildung des marginalen Randsinus und dessen Besiedlung mit spezialisierten Fresszellen (Makrophagen) wird RelB ebenfalls in stromalen Zellen benötigt. Auch die B-Lymphozyten der marginalen Randzone sind von dem Verlust von RelB betroffen. Diese speziellen B-Zellen spielen insbesondere bei der Produktion von Antikörpern ge-

gen bakterielle Krankheitserreger eine wichtige Rolle, eine Immunantwort, die in *relB*^{-/-} Mäusen deutlich abgeschwächt ist [10]. Für die Entwicklung dieses Zelltyps konnten wir nun zeigen, dass RelB in hämatopoetischen Zellen benötigt wird [8]. Ähnliche Ergebnisse wurden von einer anderen Arbeitsgruppe auch für p50-, RelA- und c-Rel-defiziente Mauslinien erhalten [11]. Das Zusammenspiel verschiedener NF- κ B-Komplexe in hämatopoetischen Vorläuferzellen ist demnach essentiell für die normale Entwicklung von B-Lymphozyten der marginalen Randzone.

Die Ausbildung der darmassoziierten Peyerschen Plaques ist abhängig von p52 und RelB

Die Peyerschen Plaques sind spezielle Lymphfollikel des Dünndarms, die durch die Resorption von Nahrungsantigenen eine besondere immunologische Aufgabe wahrnehmen. Da IgA Antikörper die Schleimhaut durchwandern und infektiöse Mikroorganismen im Darmlumen neutralisieren können, werden von Peyerschen Plaques ausgehende humorale Immunantworten meist von IgA Immunglobulinen vermittelt.

Unsere histologischen Untersuchungen ergaben, dass Peyersche Plaques in erwachsenen p52- und RelB-defizienten Mäusen vollständig fehlen, während Tiere mit einer zerstörten p50 Untereinheit im Vergleich zu Kontrolltieren weniger und kleinere Peyersche Plaques haben. Die-

ses Ergebnis stimmt auch mit der Beobachtung überein, dass sich frühe Peyersche Plaque Organanlagen in p50-defizienten Embryonen normal entwickeln, in p52- und RelB-defizienten Embryonen hingegen abwesend sind. Das Fehlen von Peyerschen

Plaques ist eine mögliche Erklärung für die dramatisch reduzierte IgA-Konzentration im Kot p52- und RelB-defizienter Mäuse. Von anderen Arbeitsgruppen wurde gezeigt, dass die durch das Zytokin IL-7 induzierte Expression des Liganden Lymphotoxin

und die Aktivierung des Lymphotoxin- β -Rezeptors während der Embryonalentwicklung unabdingbar für eine normale Entwicklung der Peyerschen Plaques ist [12, 13]. Unsere Untersuchungen ergaben, dass dieser molekulare Mechanismus in *relB*^{-/-} Mäusen nicht defekt ist.

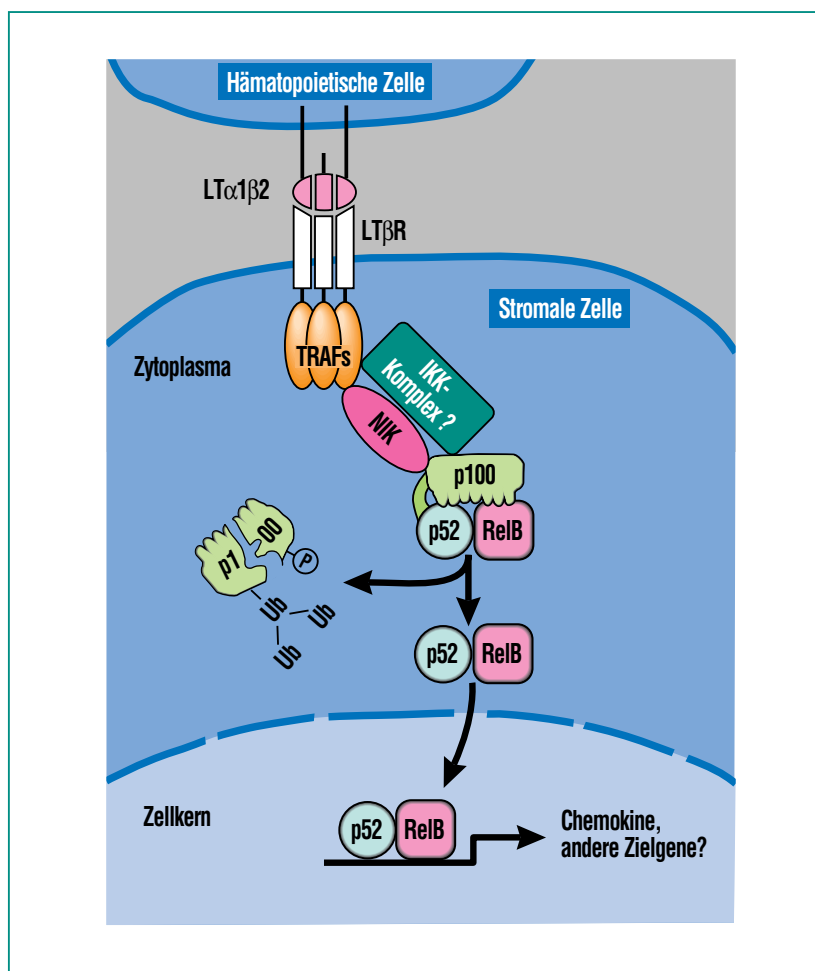


Abb. 2: Aktivierung von p52-RelB Heterodimeren durch den Lymphotoxin- β -Rezeptor. Membrangebundene Lymphotoxin Liganden auf hematopoietischen Zellen aktivieren den Lymphotoxin- β -Rezeptor auf stromalen Zellen. Das Signal wird durch die NF- κ B-induzierende Kinase (NIK) weitergegeben, was zu Phosphorylierung und Abbau des inhibitorischen C-Terminus des p100 Vorläufermoleküls führt. Die genaue Funktion des IKK-Komplexes ist noch nicht bekannt, aber sehr wahrscheinlich spielt die IKK α Untereinheit dabei eine wichtige Rolle. Die freigesetzten p52-RelB Heterodimere können nun die Expression von Chemokinen und anderen (noch unbekannt) Zielgenen aktivieren.

Spezifische Aktivierung von p52-RelB-Komplexen durch den Lymphotoxin- β -Rezeptor

Daraufhin stellte sich die Frage, ob RelB stromabwärts des Lymphotoxin Signalübertragungsweges liegt und ob die Aktivierung des Lymphotoxin- β -Rezeptors zu einer Induktion von RelB-Komplexen führt. In der Tat konnten wir mit Hilfe von embryonalen Bindegewebszellen zeigen, dass die Signalübertragung durch den Lymphotoxin- β -Rezeptor zu einer spezifischen Aktivierung von p52-RelB Heterodimeren führt, während z.B. nach Stimulation mit dem Tumor-Nekrose-Faktor ausschließlich der „klassische“ p50-RelA NF- κ B Komplex zu beobachten ist.

Neben den defekten Milzstrukturen und der völligen Abwesenheit von Peyerschen Plaques wurde in *relB*^{-/-} Mäusen auch eine dramatische Verkleinerung der Lymphknoten beobachtet. Eine mögliche Erklärung für diese massiv gestörte Entwicklung sekundärer lymphoider Organe ist, dass die Synthese von bestimmten Botenstoffen (Chemokinen), welche die Wanderung und Verteilung lymphoider Zellen steuern, in *relB*^{-/-} Mäusen beeinträchtigt ist. In der Tat wurde in Milzen

RelB-defizienter Mäuse eine deutliche Abnahme des Chemokins BLC (B lymphocyte chemo-attractant) festgestellt [8].

Zusammenfassung

Unsere Ergebnisse deuten auf eine essentielle Funktion von RelB-Komplexen bei der Entwicklung der Milz, der Peyerschen Plaques

und auch von anderen lymphoiden Organen hin. Sehr wahrscheinlich bewirkt die Bindung der Lymphotoxin Liganden, die sich auf der Oberfläche von hämatopoietischen Zellen befinden, an den Lymphotoxin- β -Rezeptor eine Aktivierung der p52-RelB Heterodimere in stromalen Zellen (siehe Abb. 2). Unser besonderes Interesse gilt nun der Frage, wel-

che Komponenten des IKK-Komplexes für die Aktivierung der p52-RelB Heterodimere benötigt und welche Zielgene von RelB reguliert werden.

Literatur

- [1] S. Ghosh, M. J. May, E. B. Kopp, *Annu. Rev. Immunol.*, 16, 225-260 (1998)
- [2] M. Karin, *Oncogene*, 18(49), 6867-6874 (1999)
- [3] T. Lernbecher, U. Müller, T. Wirth, *Nature*, 365, 767-770 (1993)
- [4] F. Weih, D. Carrasco, R. Bravo, *Oncogene*, 9, 3289-3297 (1994)
- [5] S. Gerondakis, M. Grossmann, Y. Nakamura, T. Pohl, R. Grumont, *Oncogene*, 18(49), 6888-6895 (1999)
- [6] L. Burkly, C. Hession, L. Ogata, C. Reilly, L. A. Marconi, D. Olson, R. Tizard, R. Cate, D. Lo, *Nature*, 373, 531-536 (1995).
- [7] F. Weih, D. Carrasco, S. K. Durham, D. S. Barton, C. A. Rizzo, R.-P. Ryseck, S. A. Lira, R. Bravo, *Cell*, 80, 331-340 (1995)
- [8] D. S. Weih, Z. B. Yilmaz, F. Weih, *J. Immunol.*, 167(4), 1909-1919 (2001)
- [9] L. Poljak, L. Carlson, K. Cunningham, M. H. Kosco-Vilbois, U. Siebenlist, *J. Immunol.*, 163(12), 6581-6588 (1999).
- [10] F. Weih, G. Warr, H. Yang, R. Bravo, *J. Immunol.*, 158, 5211-5218 (1997).
- [11] A. Cariappa, H.-C. Liou, B. H. Horwitz, S. Pillai, *J. Exp. Med.*, 192(8), 1175-1182 (2000)
- [12] H. Yoshida, K. Honda, R. Shinkura, S. Adachi, S. Nishikawa, K. Maki, K. Ikuta, S. I. Nishikawa, *Int. Immunol.*, 11(5), 643-655 (1999).
- [13] K. Honda, H. Nakano, H. Yoshida, S. Nishikawa, P. Rennert, K. Ikuta, M. Tamechika, K. Yamaguchi, T. Fukumoto, T. Chiba, S.-I. Nishikawa, *J. Exp. Med.*, 193(5), 621-630 (2001)