

Stimulation der Immunabwehr durch Mistelinhaltsstoffe

In-vitro-Versuche zur T-Zellreaktivität

[Sonja Fischer] [1996]

Untersucht wurde die Reaktivität von T-Lymphozyten von mistelbehandelten Tumorpatienten und von unbehandelten Tumorpatienten bzw. Gesundspendern auf Mistelinhaltsstoffe.

Fragestellung/Methodik

Präparate der Wirtsbäume Mali (Apfelbaum) und Pinie (Kiefer) stimulierten in Lymphozyten mistelbehandelter Tumorpatienten *in vitro* konzentrationsabhängig (0,5 µg/ml - 500 µg/ml) Proliferation und aktivierten hierbei präferentiell CD4 T-Zellen. Diese Stimulation war sowohl vor Bildung als auch in Gegenwart von anti-Mistellektin-I spezifischen Antikörpern im Serum der behandelten Patienten messbar. Der anti-Mistellektin-Antikörpertiter und die T-Helferstimulation sind somit nicht kausal miteinander verbunden, obgleich sie von der Therapiezeit und der Stärke des verwendeten Präparates abhängen. Lediglich *in vivo* vorsensibilisierte Lymphozyten ließen sich zur Proliferation anregen, da nur die Lymphozyten von behandelten Probanden mit den Mistelpräparaten *in vitro* reagierten. Als mögliche Erklärung für die mit längerer Therapiezeit wieder abnehmende *in vitro* T-Zellreaktivität wird eine antigen-induzierte Apoptose diskutiert.

Eine aus dem Gesamtpräparat gewonnene Vesikelfraktion aktivierte ebenfalls *in vitro* präferentiell die CD4 T-Helferzellen. Die Vesikeln stimulierten in der Regel in einem Konzentrationsbereich zwischen 2,5 µg/ml und 10 µg/ml. Durch Färbung mit Vβ-spezifischen anti-T-Zellrezeptor Antikörpern konnte gezeigt werden, dass die Vesikeln eine oligoklonale Aktivierung von CD4 T-Zellen induzieren, wobei bei verschiedenen Probanden unterschiedliche Vβ-Familien präferentiell reagierten und die Vesikeln deshalb kein Superantigen sind.

Nach PHA-Stimulation sezernierten die Lymphozyten mistelbehandelter Patienten statistisch signifikant mehr IL-4 als die Lymphozyten unbehandelter Tumorpatienten, was für ein vermehrtes Vorkommen von Th2-Zellen im peripheren Blut mistelbehandelter Patienten spricht. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, daß periphere Lymphozyten mistelbehandelter Patienten im Vergleich zu denen von unbehandelten Tumorpatienten mit dem lektinreichen Mali-Präparat *in vitro* IL-1α und TNF-α produzierten und unter PHA-Stimulation mehr IL-1α und TNF-α ausschütteten als die Lymphozyten der unbehandelten Tumorpatienten.

Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit wird *in vitro* ein Synergismus von Lektin und Vesikeln bezüglich der Proliferation von Lymphozyten mistelbehandelter Patienten sowie der CD4 T-Zellstimulation und ein Antagonismus bezüglich der Hemmung der Zytotoxizität gezeigt. Dieser Synergismus kann neben der spenderindividuellen Variabilität der Reaktivität auf die Mistelinhaltsstoffe als ein Argument für die Verwendung eines Gesamtpräparates (anstelle definierter einzelner Inhaltsstoffe) in der Misteltherapie angesehen werden.

In einer Studie mit 10 chemotherapierten und/oder bestrahlten Mamma-Ca Patientinnen konnte ein statistisch signifikanter Anstieg von CD4 T-Zellen sowie von CD25⁺-Zellen im peripheren Blut von Patientinnen, die mit einer 10⁴-fachen Verdünnung des Apfelbaum-Mistelextraktes (Mali 4) behandelt wurden, gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Der prozentuale Anteil der NK-Zellen (CD16⁺ und CD56⁺) nahm gegenüber der Kontrollgruppe ab. Bei Mamma-CA-

Patientinnen (7 Probandinnen), die mit einer 10^5 -fachen Verdünnung desselben Präparates (Mali 5) behandelt wurden, konnte kein prozentualer Anstieg der CD4 T-Zellen im peripheren Blut gemessen werden, obgleich der prozentuale Anteil der NK-Zellen abnahm. Innerhalb des 12 wöchigen Beobachtungszeitraumes kam es bei den Patientinnen, die mit der 10^4 - und der 10^5 -fachen Verdünnung des Apfelbaum-Mistelextraktes (Mali 4 und Mali 5) behandelt wurden, zu einem zumindest vorübergehenden Anstieg der Eosinophilen.

Durch Wärmebehandlung (5 Min. bei 80°C) der Mistelpräparate Mali (Apfelbaum) und Pinie (Kiefer) ließ sich die zytotoxische Wirkung aufheben. Auf derart behandelte Mistelpräparate reagierten die Lymphozyten von Gesundspendern in einem Konzentrationsbereich von $50\ \mu\text{g/ml}$ bis $500\ \mu\text{g/ml}$ *in vitro* mit einem schwachen CD4 T-Zellwachstum, aber präferentiellem $\gamma\delta$ T-Zellwachstum. Die $\gamma\delta$ T-Zellstimulation mit den wärmebehandelten Mistelpräparaten war bei allen untersuchten Spendern schwächer als mit inaktivierten Mycobakterien oder Daudi-Tumorzellen. Die $\gamma\delta$ T-Zellexpansion war durch Zugabe von IL-2 verstärkbar. Der Ligand für die $\gamma\delta$ T-Zellen hat ähnliche Eigenschaften wie derjenige der Mycobakterien. Es handelt sich um einen proteaseresistenten Liganden, der empfindlich gegenüber alkalischer Phosphatase ist. Wie bei der Mycobakterienstimulation ließ sich die Anwesenheit der CD4 T-Zellen durch IL-2 ersetzen. Eine Aktivierung von $\gamma\delta$ T-Zellen wurde nur durch eines der untersuchten Präparate hervorgerufen.

Zusammenfassung:

Die vorliegenden Untersuchungen belegen eine oligoklonale Sensibilisierung von CD4 T-Zellen im Rahmen der Misteltherapie. Erstmals konnte hierbei die Vesikelfraktion als wirksame Mistelkomponente definiert werden. Die dargelegten Ergebnisse sind in weiteren Studien hinsichtlich der Relevanz für eine potentiell wirksamere Misteltherapie zu untersuchen.