

In Vivo- und in Vitro-Untersuchungen zur Immunmodulation des spezifischen und unspezifischen Immunsystems durch Hochmolekulare Polysaccharidfraktionen der Cupressacea „Thuja Occidentale L.“

[Sven Gohla] [1988]

Fragestellung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Polysaccharidfraktionen der Pflanze "Thuja occidentale L." zu isolieren, zu fraktionieren und ihre, möglichen, immunmodulatorischen Eigenschaften in in vitro und in vivo Methoden zu untersuchen. Zunächst sollte die Frage geklärt werden, ob Thuja occidentale tatsächlich immunmodulative Inhaltsstoffe besitzt, die sich mit den modernen Methoden der Biochemie, Immunologie und Pharmazie erfassen lassen. Durch die Entdeckung, dass hochmolekulare Polysaccharidfraktionen dieser Pflanze einen mitogenen Effekt auf periphere Blutleukozyten ausüben, sollte daraufhin weiterhin festgestellt werden, welche Blutzellen durch die Lektin-artige Wirkung stimuliert wurden.

Methodik

Aus dem wässrigen bzw. wässrig-alkalischen Extrakt von "Thuja occidentale L." wurden Polysaccharidfraktionen isoliert, gereinigt und in der Folge in einer Reihe von immunologischen Testverfahren auf ihren Einfluss auf das Immunsystem hin untersucht.

Ergebnisse:

Neben einer Aktivierung der Phagozytose polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten und – im Maussystem – der NK-Zellantwort gegen Tumorzellen ergab sich als wichtigster Befund eine mitogene Aktivität der 1:1 Fällung (TPSg) von Thuja occidentale L. auf Leukozyten des peripheren humanen Blutes. Diese Mitogenität wurde zunächst als Induktion einer Clusterbildung charakterisiert und in der Folge über den ³H-Thymidineinbau als Maßstab der DANN-Syntheserate bestätigt. Mit klassischen hämatologischen Färbeverfahren (Pappenheimfärbung) und Zellseparations-Experimenten konnte zunächst gezeigt werden, dass es sich bei den durch TPSg aktivierten Leukozyten um Zellen der lymphoiden Linie handelte. Mit Hilfe der alkalischen Phosphatase anti-alkalischen Phosphatase (APAAP) Färbetechnik konnte gezeigt werden, dass TPSg mitogen auf lymphoide Zellen der T-Linie und unreife T-Zellen/Nullzellen, nicht aber auf die lymphoiden Zellen der B-Zelllinie, wirkt. Die genaue Analyse ergab, dass keine polyklonale Stimulation aller T Lymphozyten, sondern nur eine Induktion der CD4⁺ T-Helfer-(T_H)-Zellen, nicht aber der zytotoxischen bzw suppressierenden CD8⁺ T-Zellen durch TPSg erreicht wurde. Die CD4⁺ T_H-Zellen exprimieren weiterhin den Oberflächenmarker Okt 17 (CD 17; T-Zellaktivierungsmarker) und das IL-2 Rezeptorantigen (Okt 26a, TAC-Antigen). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass diese CD4⁺ T_H-Zellen auch große Mengen an IL-2 produzieren.

Diese Resultate sprechen dafür, dass durch TPSg nicht nur eine Proliferation der CD4⁺ T-Zellen sondern auch eine Differenzierung zu voll funktionstüchtigen T_H-Zellen (CD4⁺, Okt 17+ und TAC+) hervorgerufen wird. Im Gegensatz zu PHA-P und allen weiteren bekannten Mitogenen bzw. Lektinen, die neben einer Aktivierung von CD4⁺ T^H-Zellen auch eine Aktivierung von CD8⁺ zytotoxischen/-suppressorischen T-Zellen bewirken, scheint die T-Zellaktivierung von CD4⁺ T-Zellen durch die Thujapolysaccharidgesamtfraktion (TPSg) selektiv zu sein. Untersuchungen mit den, über Ultrafiltration nach dem Molekulargewicht getrennten, Teilfraktionen TPS 1 bis

TPS 4 ergaben, dass sich die mitogene Aktivität im wesentlichen in den hochmolekularen Fraktionen von TPSg (MW >300000D) findet.

Die Analyse des Aktivierungsmechanismus ergab, dass die Aktivierung abhängig ist von der Anwesenheit autologer monozytärer Zellen und durch Antikörper gegen γ -IFN und IL-1 aufgehoben werden kann. Aufbauend auf dem derzeitigen Kenntnisstand über die Mechanismen der T-Zellaktivierung lässt sich der TPSg-Wirkungsmechanismus durch folgendes Modell interpretieren. TPSg induziert zunächst γ -IFN in den CD4⁺ T-Zellen. γ -IFN bewirkt dann in den Monozyten/-Makrophagen die Produktion von IL-1 (sezerniertes IL-1 und membrangebundenes IL-1), das als zweites Signal der T-Zell-Aktivierung die Expression von IL-2-Rezeptoren und die Produktion von IL-2 in den CD4⁺ TH-Zellen auslöst.

Zusammenfassung:

Aus den bisher vorliegenden Resultaten der in vitro und in vivo Untersuchungen ergab sich selbst für Konzentrationen bis zu 5mg/ml für die untersuchte Charge von Thuja occidentale L. kein Hinweis auf eine Zytotoxizität der isolierten Polysaccharidfraktion TPSg auf peripheren Blutleukozyten. Gegenstand weiterführender Untersuchungen wird die Frage sein, ob sich die Eigenschaften von TPSg, selektiv CD4⁺/Okt 17⁺ T_H-Zellen zu aktivieren, für ein Therapiekonzept der verschiedenen Immundefekterkrankungen nutzen lässt.