



Tarik Möröy. Foto: Timo Bobert

Das genetische Programm einer Zelle ist entscheidend für ihre Fähigkeit zur Immunabwehr. Dieser Beitrag widmet sich der Immunzellentwicklung unter genetischen Gesichtspunkten.

Abwehr ist Programm

Genetische Programmierung als Grundlage für die Bildung von Zellen der Immunabwehr

Von Tarik Möröy

Die Immunabwehr unseres Körpers basiert auf zwei Säulen, einer erworbenen Immunantwort, die adaptiv und spezifisch auf einen bestimmten Krankheitserreger oder seine Bestandteile reagieren kann, und einer angeborenen Immunantwort, die diese Erreger eher unspezifisch eliminiert. Für beide Äste der Immunantwort sind spezialisierte Abwehrzellen verantwortlich; für die adaptive Immunantwort sind es die B- und T-Lymphozyten, für die angeborene Immunantwort die Zellen der myeloiden (aus dem Knochenmark stammenden) Reihe wie Makrophagen, Monozyten und Granulozyten. Während B- und T-Lymphozyten Erregerbestandteile oder andere fremde Stoffe (Antigene) spezifisch über molekulare Oberflächenstrukturen (Rezeptoren) erkennen, und diese Erkennung als Signal für die Bildung von Antikörpern oder Botenstoffen verstehen, agieren Makrophagen und Granulozyten als Fresszellen vor allem gegen Bak-

terien, die in die Blutbahn oder in Körpergewebe eingedrungen sind¹.

Alle Zellen der Immunabwehr entstehen durch Differenzierung aus einer Stammzelle, die sich beim erwachsenen Menschen vor allem im Knochenmark findet. Aus diesen Stammzellen entwickeln sich zunächst Vorläuferzellen, deren weitere Ausdifferenzierung in spezialisierte Immunzellen in verschiedenen Organen, wie etwa dem Thymus, in bestimmten Fällen in der Milz oder auch dem Knochenmark selbst stattfinden kann². Zellen aus den späteren Stadien dieser Differenzierungskaskade und alle reifen Immunabwehrzellen werden auch in verschiedener Häufigkeit in die Blut-zirkulation entlassen und können leicht durch Färbung in einem Blutausstrich sichtbar gemacht werden. Interessanterweise entwickeln sich auch andere Blutzellen wie die roten Blutkörperchen, die für den Sauerstofftransport zuständig sind, oder die für die Gerinnung wichtigen

Blutplättchen und die so genannten Megakaryozyten, die als Riesenzellen die Blutplättchen bilden, aus derselben Stammzelle wie die in der Immunabwehr aktiven Zellen. Die gesamte Blutbildung, die auch als „Hämatopoese“ bezeichnet wird, und die die eigentlichen Blutzellen und die Zellen der Immunabwehr einschließt, wird daher durch Differenzierung einer einzigen Zelle, der so genannten hämatopoetischen Stammzelle (HSC) realisiert. Diese Stammzellen können transplantiert werden und wenn Spender und Empfänger eine ähnliche Histokompatibilität aufweisen, kann sich aus wenigen transplantierten Stammzellen wieder ein neues, hämatopoetisches System mit allen Zellen der Blutbildung und Immunabwehr bilden². Diese Tatsache ermöglicht es, Patienten, die an Blutkrebs (Leukämie) leiden, zu heilen. Diesen Patienten werden zunächst durch Bestrahlung alle Blutzellen und damit auch die

Blutkrebszellen entfernt. Durch die anschließende Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen eines gesunden Spenders kann in diesen Patienten dann die gesamte Blutbildung mit allen Zellen der Immunabwehr wieder neu aufgebaut werden.

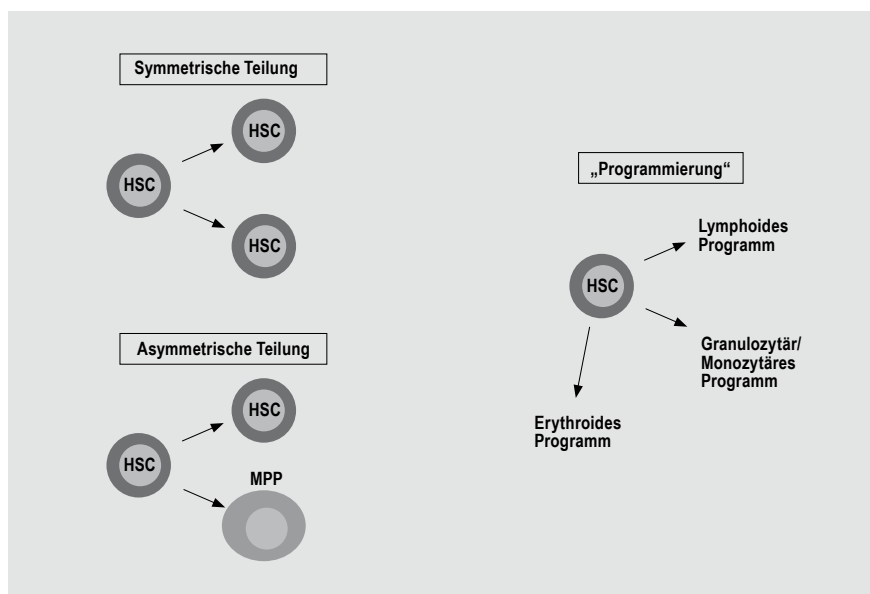
Genetisches Programm durch Kontrolle der Genexpression

Die Differenzierung der Stammzellen in die verschiedenen Vorläuferzellen und die weitere Entwicklung in die erwähnten spezialisierten Blut- und Immunabwehrzellen ist ein komplizierter Prozess, der in seinen Einzelheiten noch immer nicht genau verstanden wird. Eine Vielzahl von Experimenten der letzten Jahre verdeutlicht aber, dass dieser Prozess einer genetischen Steuerung oder einer genetischen Programmierung unterliegt^{3,4,5,6}. Die hämatopoetische Differenzierung kann danach als eine Reihe konsekutiver Bifurkationen (zweiastige Gabelungen) in einem hierarchisch aufgebauten System angesehen werden, in dem sich die Pluripotenz der Stammzelle und ihre Kapazität zur Selbsterneuerung mit der Bildung von immer enger festgelegten Vorläuferzellen langsam verliert, wobei sich in den entstehenden neuen Zellen der Grad der Festlegung auf eine bestimmte

Aufgabe und damit die Ausbildung einer bestimmten Funktion immer mehr verdichtet². Bisher ist noch nicht geklärt, welche Ereignisse eine Stammzelle dazu bewegen, sich in eine Vorläuferzelle zu entwickeln und damit einen Teil ihrer Pluripotenz aufzugeben, oder sich weiter zu teilen und die volle Kapazität einer Stammzelle zu behalten. Ob dieser Entscheidungsprozess mit dem Prozess der Zellteilung der Stammzellen selbst, oder ihrem Aufenthaltsort im Knochenmark, oder über ihre Anheftung an das Knochenmarkgewebe zusammenhängt, ist ebenfalls Gegenstand aktueller Forschung. Klar ist jedoch, dass die Stammzelle sowohl zu einer symmetrischen Teilung als auch zu einer asymmetrischen Teilung befähigt sein muss (Abb. 1). In der symmetrischen Teilung haben beide Tochterzellen wieder das gleiche Potenzial wie die Stammzelle, aus der sie hervorgegangen ist, besitzen also wieder Pluripotenz, Selbsterneuerungskapazität und die Fähigkeit zur Rekonstitution der gesamten Blutbildung nach einer Transplantation. In einer asymmetrischen Teilung verliert eine der Tochterzellen einen Teil dieser Charakteristika und differenziert sich in eine Vorläuferzelle, die nun wieder Quelle für die Zellen des nächsten Differenzierungsschritts sein kann, aber nicht mehr dieselbe

Kapazität zur Selbsterneuerung wie die ursprüngliche Stammzelle besitzt. Diese Tochterzelle ist dann nicht mehr pluripotent und, je nach Entwicklungsstadium, schon für eine Differenzierungsrichtung festgelegt (Abb. 1). Nach bisherigen Erkenntnissen wird dieser Weg in der Regel nicht in umgekehrter Reihenfolge beschritten.

Bei aller Unsicherheit über die molekularen Mechanismen, die diese Prozesse steuern, besteht Einigkeit darüber, dass die Regulation der Genaktivität über so genannte Transkriptionsfaktoren eine entscheidende Rolle spielt. Die Gesamtheit aller etwa 35.000 Gene einer menschlichen Zelle ist nie zur gleichen Zeit aktiv. Bestimmte Gene werden exprimiert, sie sind aktiv, das heißt sie schreiben ihre genetische Information, die in der Sequenz der chromosomalen DNA enthalten ist, in so genannte Boten-RNA (mRNA) um, die als Blaupause für die Herstellung eines Proteins dient. Erst diese Proteine üben in der Zelle bestimmte Funktionen aus, die etwa eine asymmetrische Teilung oder eine Differenzierung einleiten können. Nun wird die Transkription aller Gene sehr stark durch DNA-bindende Transkriptionsfaktoren reguliert, von denen eine Vielzahl verschiedener Typen und Formen existieren. Allen ist aber gemeinsam, dass sie an DNA



(1) Symmetrische und asymmetrische Teilung einer hämatopoetischen Stammzelle. Die symmetrische Teilung ergibt zwei identische Tochterzellen mit gleichen Fähigkeiten und Charakteristika. Die asymmetrische Teilung ergibt eine Stammzelle (HSC; Hematopoetic Stem Cell) und eine Vorläuferzelle (MPP: MultiPotent Progenitor), die noch die Fähigkeit besitzt, alle Zellen der Hämatopoese zu bilden, aber in ihrer Fähigkeit zur Selbsterneuerung eingeschränkt ist. Schematische Darstellung der drei möglichen Hauptprogramme, die in einer hämatopoetischen Stammzelle (HSC) festgelegt werden können.

binden und die in der Nachbarschaft zur Bindestelle liegenden Gene entweder aktivieren, also zur Bildung von mRNA anregen, oder inaktivieren, also die Bildung von mRNA unterdrücken (reprimieren). Dieser Prozess ist stark reguliert, hochkomplex und ist das Ergebnis einer Reihe biochemischer Prozesse, die außerdem von der Verpackung der DNA in Chromatin, der chemischen Modifikation der DNA und seiner Chromatinproteine abhängt oder sie beeinflusst. Auch der Halbwertszeit der mRNA und die Zusammensetzung ihrer kodierenden Bereiche spielen hier eine Rolle. Man spricht in diesem Zusammenhang auch von „epigenetischen“ Mechanismen. Ungeachtet seiner Komplexität garantiert die Präsenz einer definierten Gruppe von Transkriptionsfaktoren in diesem Prozess einen bestimmten Genaktivitätszustand. Dieser ist dadurch charakterisiert, dass bestimmte Gene abgeschaltet sind, eine andere Gruppe von Genen aktiv ist und eine dritte Gruppe von Genen durch das komplexe Zusammenspiel mehrerer Transkriptionsfaktoren feinreguliert wird und sich in einem intermediären Aktivitätszustand befindet. Einfacher ausgedrückt: der jeweils in einer Zelle präsente Set von Transkriptionsregulatoren determiniert die Genaktivität einer Zelle und verordnet ihr ein definiertes Expressionsprofil. Dies kann als eine Art genetischer Programmierung aufgefasst werden, wobei man für die hämatopoetische Differenzierung drei Hauptprogramme, ein lymphoides (L), ein granulö-/monozytäres (GM) und ein erythroides (E), unterscheiden kann (Abb. 1).

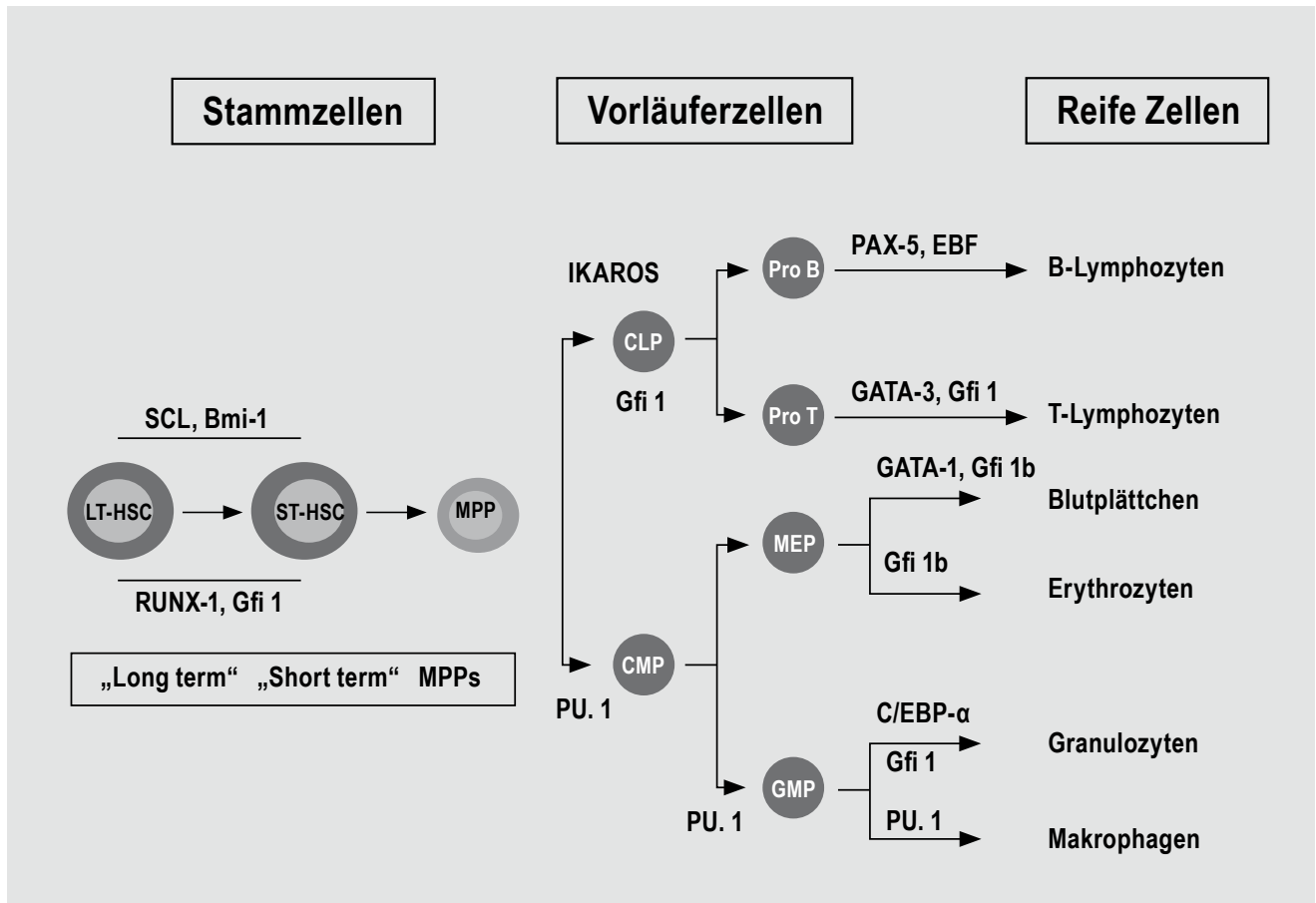
Wie kann das genetische Programm in einer Vorläuferzelle so festgelegt werden, dass Differenzierungsprozesse und die Bildung spezialisierter Zellen stattfinden kann, und andererseits die Fähigkeit zur Selbsterneuerung gewährleistet ist? Die Synthese und Halbwertszeit der Transkriptionsfaktoren, die ein bestimmtes genetisches Programm

ausmachen, hängen selbst wieder von Genaktivitäten ab, die durch übergeordnete Transkriptionsfaktoren gesteuert werden, die auf rezeptorvermittelte Signale aus dem Milieu, in dem sich eine Stammzelle befindet, reagieren kann. So ist denkbar, dass Zell-Zell Kontakte oder das Andocken eines Wachstumsfaktors an eine Stammzelle ein Signal in die Zelle leitet, das zur Änderung der Genexpression und damit zu einer genetischen Programmierung führt, die dann einen Differenzierungsprozess auslöst oder ihn verhindert. Alternativ besteht allerdings auch die Möglichkeit, dass dieser Art der genetischen Programmierung eher ein stochastischer Prozess zu Grunde liegt, der über die Zeit mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit zu Abweichungen der Expression bestimmter Gene führt, ohne dass hierfür eine bestimmter Wachstumsfaktor, ein externes Signal oder ein Zell-Zellkontakt nötig wäre. Diese Ansicht ist spekulativ und eine experimentelle Überprüfung schwierig. Allerdings wird diese Ansicht durch viele Studien, die sich mit der Erstellung globaler Genexpressionprofile beschäftigt haben, unterstützt und es ist nicht ausgeschlossen, dass eine mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit eintretende bestimmte Expressionsveränderung einer Gruppe von Genen die erste Reprogrammierung einleitet, die eine Stammzelle zu einer asymmetrischen Teilung veranlasst. In diesem Modell muss allerdings auch gefordert werden, dass Selektionsmechanismen existieren, die nur solche Zellen aus der ersten asymmetrischen Teilung überleben lassen, die die Fähigkeit zur weiteren Differenzierung in spezialisierte Vorläuferzellen besitzen. Es ist denkbar, dass dies dann durch lösliche Wachstumsfaktoren oder durch direkte Kontakte der Zellen mit anderen Zellen oder mit Komponenten der unmittelbaren Umgebung realisiert werden kann.

Ein weiteres, zurzeit sehr favorisiertes Modell, welches die Regulation zwischen symmetri-

schers und asymmetrischer Teilung einer hämatopoetischen Stammzelle erklären könnte, ist das Konzept der so genannten „Stammzellnische“. Hierbei wird postuliert, dass ein räumlich abgegrenzter Bereich im Knochenmark existiert, in dem sich Stammzellen fortwährend symmetrisch teilen und vermehren. Das Signal für die symmetrische Teilung und die Festlegung des genetischen Programms hierfür wird dabei durch direkten Kontakt der Stammzelle mit anderen Zellen des Knochenmarks über deren spezifische Oberflächenrezeptoren, die entsprechende Liganden auf den Stammzellen finden, gesichert. Wächst die Stammzellpopulation und erreicht den räumlichen Grenzbereich der Nische, so trifft sie auf andere Zellen mit einem veränderten Muster an Oberflächenrezeptoren, die eine genetische Umprogrammierung der Stammzelle verursachen und eine asymmetrische Teilung einleiten können.

Eine hämatopoetische Stammzelle besitzt also nicht nur die Funktion zur Selbsterneuerung, die ein Leben lang anhält (wir bilden auch im hohen Alter noch täglich neue Blut- und Immunabwehrzellen), sondern auch die Fähigkeit der Rekonstitution des gesamten blutbildenden Systems nach einer Transplantation in einen Rezipienten und vor allem die Fähigkeit, alle Zellen des Blutes und des Immunsystems auszubilden. Fallen diese Funktionen aus, so entwickeln sich bestimmte Defekte wie etwa eine Anämie oder Immundefizienzerkrankungen. In einer vereinfachten Betrachtungsweise bildet eine hämatopoetische Stammzelle zunächst Vorläuferzellen mit begrenzter Kapazität zur Selbsterneuerung (short term HSCs, ST-HSCs) und so genannte Multipotente Vorläuferzellen (MPP), die bereits weniger Selbsterneuerungskapazität haben als die HSCs aber noch nicht auf einen bestimmten Differenzierungsweg festgelegt sind. Aus diesen bilden sich schließlich eine lymphoide und eine myeloide Vorläuferzelle („Common Lym-



(2) Schematisch vereinfachte Darstellung der Hämatopoese (nach Weissman und Akashi). Beispiele für Transkriptionsfaktoren, die für die jeweiligen Differenzierungsschritte verantwortlich sind, sind angegeben. Differenzierungswege sind gekennzeichnet.

Legende: LT-HSC: long term hematopoietic stem cells, ST-HSC: short term hematopoietic stem cells. MPP: Multipotent Progenitors, CMP: Common Myeloid Progenitor. CLP: Common Lymphoid Progenitor. GMP: Granulo/Monocytic Progenitor. MEP: Megakaryocytic/Erythroid Progenitor.

phoid Progenitors“ und „Common Myeloid Progenitors“ CLPs, CMPs) (Abb. 2). Diese beiden Zelltypen sind jetzt in ihrem Programm soweit festgelegt, dass sie nur noch entweder lymphoide oder myeloide Zellen hervorbringen können. CMPs bilden wiederum zwei weitere Vorläuferzellen, eine für die granulocytäre und monozytäre Reihe („granulocytic/monocytic precursor“, GMP) und eine für die erythroide und megakaryozytäre Reihe („Megakaryocytic/Erythroid Precursor“, MEP). Aus GMPs bilden sich die ausdifferenzierten Makrophagen, Monozyten, und Granulozyten (myeloide Reihe), aus MEPs die Erythrozyten und Blutplättchen (erythroide Reihe). Die CLPs bilden nachfolgende Zellen, die sich pro-B- und pro-T-

Zellen nennen und in ihrem Differenzierungs-Potenzial auf B- und T-Lymphozyten festgelegt sind (Abb. 2).

Lympho- und Hämatopoese

Die Vorläufer der lymphoiden und myeloiden Zellreihe (CLPs, CMPs) können über typische Oberflächen Proteine genau identifiziert werden. CLPs besitzen die Fähigkeit eine Reihe unterschiedlicher lymphoider Zellen zu bilden, so können sie B-Lymphozyten bilden, also diejenigen Zellen, die Antikörper bilden, oder T-Lymphozyten, die fremde Antigene über einen Rezeptor erkennen und daraufhin entweder wichtige Botenstoffe, die Zytokine, bilden, die B-Lympho-

zyten bei der Antikörperbildung unterstützen. T-Lymphozyten sind allerdings auch in der Lage, Zellen, die ein fremdes Antigen tragen, das zum Beispiel nach einer Virusinfektion gebildet wird, zu zerstören. Damit kann sich der Organismus einer virus-infizierten Zelle entledigen. Wie trifft eine lymphoide Vorläuferzelle die Entscheidung, welche lymphoide Effektorzelle, also B- oder T-Zelle, sie bilden soll? Im Falle der Bildung der T-Lymphozyten ist dies recht gut aufgeklärt. CLPs tragen einen bestimmten Oberflächenrezeptor (Notch) und wenn sie durch den Blutstrom in den Thymus gelangen und dort auf Zellen treffen, die Liganden für diesen Notch-Rezeptor produzieren, erhalten sie ein Signal,

das ihre genetische Programmierung ändert und so festlegt, dass sich nur T-Lymphozyten entwickeln. Treffen CLPs nicht auf eine solche Notch-Liganden produzierende Zelle, bleibt ihre ursprüngliche Programmierung erhalten und ist für andere neue Signale offen. In diesem Falle bilden sich aus den CLPs überwiegend unter Einfluss von bestimmten Wachstumsfaktoren B-Lymphozyten aus; daher findet sich im Thymus immer eine zwar geringe aber messbare Menge an B-Lymphozyten, obwohl die überwiegende Masse der B-Lymphozyten im Knochenmark gebildet werden, und als reife, aber noch naive Zellen in die Milz und in die Lymphknoten wandern, wo sie mit fremdem Antigen in Kontakt treten können.

Ähnlich wie CLPs müssen im Laufe der Blutzelldifferenzierung auch die CMPs Entscheidungen treffen, welchen Typ von Tochterzellen sie bilden, wenn sie eine asymmetrische Teilung durchführen. Im Falle einer symmetrischen Teilung vermehren sie nur sich selbst, wie dies auch die anderen Vorläufer und die Stammzellen selbst tun. CMPs haben die Möglichkeit sich in zwei weitere, ebenfalls durch Oberflächenmarker exakt definierte Zellen zu differenzieren, die eine weitestgehende Festlegung ihres Potenzials erfahren. Dies sind zum einen die Vorläufer der roten Blutkörperchen (Erythrozyten), die für den Sauerstofftransport zuständig sind und der die Blutplättchen bildenden Zellen (Megakaryozyten), die für die Blutgerinnung von Bedeutung sind. Von Interesse für die Immunabwehr ist aber die zweite Gruppe die aus den CMPs entsteht: die granulomonozytären Vorläufer. Aus Ihnen gehen die Granulozyten und Makrophagen hervor, die beide die erste Verteidigungslinie der menschlichen Immunabwehr darstellen, da sie Fresszellen sind, die die Blutgefäße verlassen können und ins Gewebe eindringende Bakterien durch einen Vorgang, den man Phagozytose nennt, aufnehmen und eliminieren können.

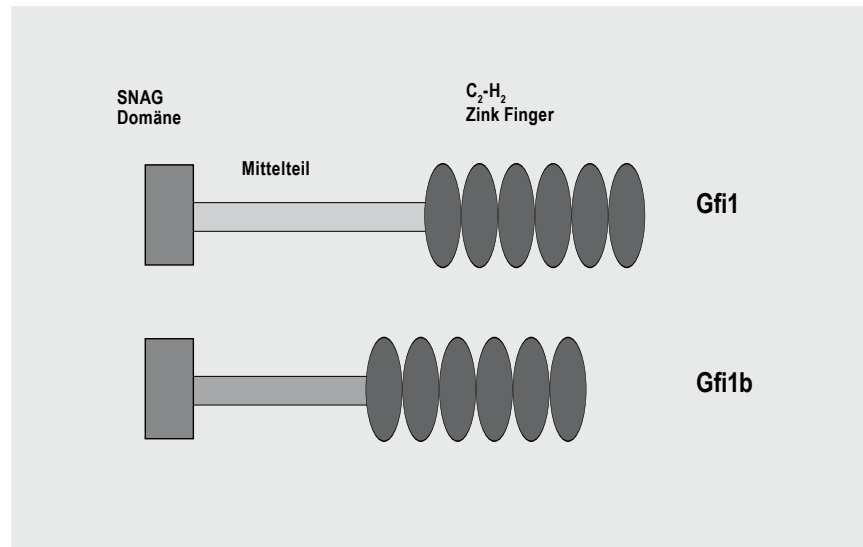
Ausbildung von T- und B-Zellrepertoire

Haben sich aus den CLPs definierte T-Zell-Vorläuferzellen gebildet, so ist eine weitere Differenzierung in reife, funktionelle T-Lymphozyten möglich, andere Zelltypen können aus diesen festgelegten Vorläufern nicht mehr entstehen. Bevor eine funktionelle T-Zelle, die der Immunabwehr zur Verfügung steht, gebildet werden kann, sind weitere Differenzierungsschritte nötig, die wie alle anderen vorhergehenden Schritte ebenfalls von einem genetischen Programm abhängen. Wesentlich für die Bildung funktioneller T-Zellen ist die Expression eines T-Zellrezeptors, der fremdes Antigen erkennen kann. Dieser Prozess findet im Thymus statt und stellt sicher, dass keine T-Zellen in die Blutbahn entlassen werden, die körpereigene Zellen erkennen. Die genetische Programmierung dieser Schritte basiert hier nicht nur auf der Aktivität von Transkriptionsfaktoren sondern auch auf einer Umordnung von Genen, die den T-Zellrezeptor exprimieren, also für dessen Synthese in der Zelle die Information liefern. Diese Umorganisation ist kompliziert, stellt aber sicher, dass eine Vielzahl verschiedener T-Zellrezeptoren gemacht werden, die möglichst viele fremde Antigene, die in den Körper gelangen können, auch erkennen. Man spricht hierbei von der Ausbildung eines T-Zellrepertoires, das der Immunabwehr zur Verfügung steht. Ganz ähnlich funktioniert die Bildung der B-Lymphozyten, die ebenfalls ein großes Repertoire an Zellen liefert, die viele verschiedene Antikörpermoleküle bilden, die in der Lage sind im Wesentlichen alle fremden Strukturen, die in die Blutbahn oder ins Gewebe gelangen, zu erkennen und dadurch die Reaktionen der Immunabwehr zu starten. Auch hier gibt es neben den Transkriptionsfaktoren mit der Umorganisation der Gene, die für die Antikörper kodieren, eine zusätzliche Komponente der genetischen Programmierung.

Die Hauptakteure der genetischen Programmierung: Transkriptionsfaktoren

Betrachtet man die gesamte Blutbildung und die Bildung der für die Immunabwehr essentiellen Zellen, ergibt sich, wie schon erwähnt, eine hierarchische Ordnung, in der sich eine Vorläuferzelle in eine nachgeordnete Zelle mit weniger Differenzierungspotenzial und höherem Festlegungsgrad entwickelt oder in der aus Vorläuferzellen zwei unterschiedliche Typen von nachgeordneten Zellen mit stark festgelegtem Potenzial entstehen (Abb. 2). Letzteres tritt weiter unten in der Hierarchie häufiger auf, und kann als eine Reihe von binären Entscheidungen angesehen werden. Für einige dieser Entscheidungen, die in jedem Fall einen Differenzierungsschritt bedeuten, sind bestimmte Faktoren bekannt, die diesen Schritt einleiten oder steuern und ohne die keine spezifische Differenzierung stattfinden würde. Im Schema in Abbildung 2 ist die gesamte Hämatopoese schematisch aufgeführt mit einigen der für die einzelnen Schritte bekannten Faktoren. Dabei handelt es sich ausschließlich um Transkriptionsregulatoren, also Proteine, die direkt oder indirekt an DNA binden und die Aktivität der dieser Bindestelle benachbarten Gene regulieren. Vor allem die Analyse von Mäusen, die einen oder mehrere dieser Faktoren vermehrt exprimieren, oder in denen einer oder mehrere dieser Faktoren deletiert wurde, haben die Informationen geliefert, die eine Zuordnung zu bestimmten Differenzierungsschritten erlauben^{6,7}. Dabei wurde deutlich, dass nicht ein Faktor nur für einen Differenzierungsschritt verantwortlich ist, sondern dass bestimmte Faktoren an mehreren Stellen eingreifen können, und dass an einer bestimmten Stelle auch mehrere Faktoren eine funktionell überlappende Rolle spielen können. Alle diese Transkriptionsfaktoren werden mit bestimmten Abkürzungen bezeichnet, die in den meisten

(3) Schematischer Aufbau und Struktur der Gfi-Proteine. N-terminal: Die für die Funktion als Repressor wichtige SNAG-Domäne, C-terminal: sechs Zink-Finger-Domänen. Die Bereiche der Gfi Proteine, die zwischen der SNAG-Domäne und den Zink-Finger-Domänen liegen (Mittelteile) weisen wenig Sequenzähnlichkeiten auf.



Fällen von der erstbeschreibenden Arbeitsgruppe definiert wurde. Dabei fließen ganz unterschiedliche Kriterien in die Namensgebung ein: „GATA“-Faktoren werden so genannt, da sie an eine DNA-Sequenz mit der Basenfolge G-A-T-A (Guanin - Adenin - Thymin - Adenin) binden können, während das Protein „FOG“ seine Bezeichnung von der Eigenschaft ableitet, an GATA zu binden und daher als „Friend of GATA“ also als „GATA-Freund“^{3,4} bezeichnet wurde. Für das Verständnis des Prinzips der genetischen Programmierung ist eine detaillierte Kenntnis der einzelnen Abkürzungen aller Faktoren nicht unbedingt von Bedeutung. Die Quintessenz ist: Jedes dieser Proteine kann die Expression eines bestimmten Sets von Genen steuern, welche für die Differenzierung einer Zelle in eine bestimmte Effektorzelle und für deren spezifische Funktionen notwendig ist.

Für die Funktion von hämatopoetischen Stammzellen konnten bisher mehrere Faktoren identifiziert werden, die mit SCL, Bmi-1 oder Gfi1 bezeichnet werden. Alle drei Proteine sind für die Funktion der hämatopoetischen Stammzelle wichtig, allerdings auf unterschiedlichen Ebenen: Wird das Protein SCL deletiert, so kommt es zum völligen Erliegen der Blutbildung;

eine Deletion von Bmi-1 führt bei der erwachsenen Maus in höherem Lebensalter zu einer Anämie, also zu einer verminderten Bildung roter Blutkörperchen. Die Deletion des Gfi1-Gens hat zunächst keine dramatischen Auswirkungen auf eine hämatopoetische Stammzelle, verursacht aber einen Defekt der Selbsterneuerung nach Übertragung in ein Empfängertier. Die Faktoren Ikaros und Pax-5 sind für die nachfolgende Entwicklung der lymphoiden Zellen verantwortlich, die Proteine GATA-1 und FOG für die Bildung von roten Blutkörperchen und Megakaryozyten, EKLf ist wohl ausschließlich für die Bildung roter Blutkörperchen verantwortlich, Pu.1 für Monozyten, C/EBP- α für neutrophile Granulozyten^{5,6}. Heute sind über 50 verschiedene Transkriptionsfaktoren bekannt, die die genetische Programmierung der Hämatopoese steuern⁷. Die Beschreibung aller dieser Faktoren würde den Rahmen dieses Beitrages sprengen. Daher soll im Folgenden an einem Beispiel, nämlich an den Transkriptionsfaktoren Gfi1 und Gfi1b, beschrieben werden, wie solche Faktoren entdeckt werden können, welche regulatorischen Aufgaben ein einzelner Faktor bei der Entstehung der Zellen der Immunabwehr spielen kann und wie diese Entdeckungen experimentell gewonnen werden können.

Transkriptionsfaktoren Gfi1 und Gfi1b als Komponenten der genetischen Programmierung in der Hämatopoese

Die Abkürzung Gfi1 steht für den englischen Begriff „Growth factor independence-1“ und wurde als Bezeichnung für ein neues Gen verwendet, das bei Untersuchungen an T-Lymphozyten im Jahr 1993 entdeckt wurde^{7,8,9}. Dasselbe Gen wurde auch bei der Suche nach neuen Genen, deren Produkte die maligne Transformation von hämatopoetischen Zellen, also die Entstehung von Blutkrebs (Leukämie), ermöglichen oder begünstigen, gefunden, was zu Spekulationen Anlass gab, dass es sich bei Gfi1 nicht nur um einen Regulator von Immunabwehrzellen handeln könnte, sondern auch um ein Onko-Gen. Ein wichtiges Hilfsmittel, solche Onko-Gene aufzuspüren, sind Retroviren, die ihre provirale DNA stabil ins Genom einer Zelle integrieren und so als „genomische Marker“ dienen können. Infiziert man neugeborene Mäuse zum Beispiel mit dem Moloney Murine Leukemia Virus (MoMuLV), so entstehen maligne lymphoide Tumoren, die klonal sind, also von einer einzigen, veränderten Zelle abstammen. Analysiert man die Insertionsstellen der proviralen MoMuLV-DNA im Genom der

Transkriptionsfaktor essentiell für die korrekte Entwicklung von Megakaryozyten ist. Die Myelopoese, also die Entwicklung von Granulozyten und Monozyten/Makrophagen, ist in diesen Tieren, soweit das überprüfbar war, jedoch intakt und scheint damit von Gfi1b unabhängig zu sein¹³. Eine forcierte Expression von Gfi1b in hämatopoetischen Stammzellen über retrovirale Transduktion führt zu einer Proliferation von Erythroblasten, hatte aber keinen Einfluss auf die Differenzierung von erythroiden Vorläufern¹⁴. Diese Ergebnisse deuteten darauf hin, dass Gfi1b ein essentieller Faktor für die proliferative Kontrolle von Vorläuferzellen der Erythro- und Megakaryopoese ist. Direkte Zielgene von Gfi1b die diese Funktionen vermitteln sind bisher noch völlig unbekannt. In einer Arbeit finden sich aber experimentelle Hinweise auf die Regulation der Gene SOCS1 und SOCS3 (suppressor of cytokine signaling), die die Wirkung von Zytokinen regulieren.

Gfi1 und seine Rolle in hämatopoetischen Stammzellen

Weitergehende Analysen im Labor des Verfassers zeigten, dass der Verlust von Gfi1 mit einem Defekt in hämatopoetischen Stammzellen (Hematopoietic Stem Cells, HSCs) einhergeht. Gfi1 ist sowohl in HSCs als auch in spezifischen reifen Vorläuferzellen exprimiert und ein Verlust von Gfi1 führt zu einer Verminderung sowohl von HSCs als auch anderer Vorläufer wie der CLPs im Knochenmark. Interessanterweise findet sich in Gfi1-defizienten Mäusen eine erhöhte Zellteilungsrate von HSCs, was darauf hindeutet, dass Gfi1 das proliferative Verhalten von HSCs dämpft. Außerdem zeigte sich, dass HSCs, denen Gfi1 fehlt, ihre Fähigkeit zur Selbsterneuerung zur Ausdifferenzierung in Effektorzellen verlieren oder dass diese Fähigkeiten zumindest stark eingeschränkt sind. Vor allem Experimente, in denen Gfi1-defizi-

ente HSCs in eine Empfängermaus transplantiert wurden, zeigten diesen Defekt auf drastische Weise; in keinem der Empfängertiere konnten Gfi1-defiziente Stammzellen eine eigene Blutbildung initiieren, was jedoch mit Stammzellen aus normalen Mäusen sehr gut möglich war¹⁵.

Der Befund, dass der Verlust von Gfi1 mit erhöhter Proliferation von HSCs korreliert, kam überraschend, da in früheren Experimenten gezeigt werden konnte, dass eine Überexpression von Gfi1 den Eintritt von T-Lymphozyten in die S-Phase stark stimuliert. Weshalb ein Verlust von Gfi1 in HSCs nun proliferationsfördernd wirken soll, wo man den gegenteiligen Effekt vermuten würde, ist bisher ungeklärt. Ein Befund der im Labor des Verfassers erhoben wurde könnte jedoch Aufschluss über die zu Grunde liegenden Mechanismen geben: Im Knochenmark Gfi1-defizienter Mäuse konnte die Expression von p21^{WAF}, eines Inhibitors der Zellzyklus-Progression (Zellteilung), nicht mehr nachgewiesen werden¹⁵. Es ist anzunehmen, dass dieser Umstand Gfi1 defizienten HSCs den Übertritt in die S-Phase und damit in den Eintritt in den Zellzyklus erleichtert. Da gezeigt werden konnte, dass hämatopoetische Stammzellen, die die Ruhephase verlassen haben und sich im Zellteilungszyklus befinden, ihre Fähigkeit zur Selbsterneuerung und zur Rekonstitution der Hämatopoese verlieren, kann vermutet werden, dass der Verlust von Gfi1 über die Regulation der Proliferation zu dem beobachteten Stammzelldefekt führt¹⁵. In diesem Modell (Abb. 4) kommt Gfi1 die Funktion eines Regulators zu, der über die Proliferation die Funktion der Stammzellen kontrolliert und dafür sorgt, dass immer eine bestimmte Fraktion von HSCs in G0 verbleibt. In diesem Zusammenhang ist von Interesse, dass gerade für Entstehung und Progression von Leukämien Modelle diskutiert werden, die die Existenz von Krebsstammzellen postulieren, die wie in der normalen Hämatopo-

ese den Aufbau eines hierarchischen, sich selbst erneuernden Systems garantiert. Ob Gfi1 in leukämischen Krebsstammzellen eine Rolle spielt und möglicherweise als Zielstruktur für therapeutische Maßnahmen dienen kann, da es ruhende Zellen in die Zellteilung treibt und sie so für Chemotherapeutika anfällig macht, wird Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Das Beispiel der Gfi-Proteine Gfi1 und Gfi1b zeigt, wie Transkriptionsfaktoren die Differenzierung und binären Entscheidungen der Stammzellendifferenzierung beeinflussen können. In GMPs ist Gfi1 exprimiert und wichtig für die Bildung von Granulozyten, muss aber für die Differenzierung in Makrophagen abgeschaltet werden. Fällt Gfi1 weg, wie in den durch „gene targeting“ hergestellten Gfi1-defizienten Mäusen, bilden sich keine Granulozyten mehr, aber die Makrophagen Differenzierung ist nicht beeinträchtigt. Gfi1b spielt hier keine Rolle, wird aber in CMPs exprimiert und seine Expression muss für die Bildung von MEPs aufrechterhalten werden und für die Bildung von GMPs abgeschaltet werden. Während Gfi1b in HSCs und frühen Vorläufern wiederum keine Rolle spielt, wird Gfi1 in diesen Zellen exprimiert und seine Expression muss für die Bildung von CLPs aber nicht für die Bildung von CMPs aufrechterhalten werden. Fällt Gfi1 weg, bilden sich keine CLPs mehr aus, CMPs sind aber nicht beeinträchtigt.

Ausblick

Viele Leukämien und Lymphome (Formen des Blutkrebses) und eine Reihe von Immundefizienzerkrankungen haben ihre Ursache in einer defekten genetischen Programmierung von hämatopoetischen Stammzellen, von Vorläuferzellen oder von bereits differenzierten Immuneffektorzellen. Hierbei hat sich die Stammzelltransplantation als Therapiekonzept insbesondere für die Heilung von Patienten mit Leu-

kämien bereits als sehr wirkungsvoll erwiesen. Für die Weiterentwicklung von therapeutischen Verfahren mit hämatopoetischen Stammzellen und von Medikamenten, die in diesen Zellen ihre Wirkung entfalten, wird es von großer Bedeutung sein, ihre genetische Programmierung genau zu verstehen und sie gezielt von außen beeinflussen zu können. Daher wird die detaillierte und genomweite Analyse der durch das Zusammenspiel mehrerer Transkriptionsfaktoren erreichten Regulationszustände hämatopoetischer Zellen das Ziel der vor uns liegenden Arbeiten sein.

Summary

Cells of the immune defense that are part of hematopoiesis develop from a single hematopoietic stem cell that resides in the bone marrow. This cell has the ability to initiate the differentiation program for all blood forming and immune cells, has a life long capacity for self renewal, and can reconstitute the entire hematopoiesis in a host organism after transplantation. One stem cell gives rise to precursor cells which in turn differentiate into more specialized cells. Along this differentiation cascade, the precursor cells and their progeny gradually lose multipotency and to some degree their capacity for self renewal. At the same time, however, they acquire the ability to perform specific tasks as for instance oxygen transport, blood clotting, cytokine production or antibody formation. This hierarchical order of differentiation is controlled by transcription factors that regulate the expression of specific downstream effector genes. The presence of a defined set of transcriptional regulators determines the gene expression pattern by acting on the DNA and its chromatin constituents and is the basis for a genetic programming of hematopoietic cells. Loss and gain of function mutants in particular in mice have demonstrated

the importance of single transcriptional regulators in this process of hematopoietic cell differentiation and support the view that the maintenance of a specific genetic program determines the outcome of developmental decisions and the production of specific effector cells.

Anmerkungen

- 1) Janeway, C.A., Travers, P., Walport, M., Shlomchil, M.: Immunologie, 5. Auflage, Spektrum Verlag, Gustav Fischer.
- 2) Weissman IL, Anderson DJ, Gage F.: Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations, in *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2001(17), 387-403.
- 3) Orkin, S.H.: Development of the hematopoietic system, in *Curr Opin Genet Dev.* 1996 6(5), 597-602.
- 4) Cantor, A.B., Orkin, S.H.: Coregulation of GATA factors by the Friend of GATA (FOG) family of multitype zinc finger proteins, in *Semin Cell Dev Biol.* 2005 16(1), 117-28.
- 5) Orkin S.H., Zon L.L.: Hematopoiesis and stem cells: plasticity versus developmental heterogeneity, in *Nat Immunol.* 2002 3(4), 323-8.
- 6) Shivdasani, R.A., Orkin, S.H.: The transcriptional control of hematopoiesis, in *Blood.* 1996 87(10), 4025-39.
- 7) Transcription factors: Normal and Malignant Development of Blood Cells Edited by Katya Ravid, Jonathan Licht, 2001, Wiley-Liss, Inc., 573-591.
- 8) Gilks, C.B., Bear, S.E., Grimes, H.L., Tschlis, P.N.: Progression of interleukin-2 (IL-2)-dependent rat T cell lymphoma lines to IL-2-independent growth following activation of a gene (Gfi-1) encoding a novel zinc finger protein, in *Mol Cell Biol.* 1993, 13(3), 1759-68.
- 9) Möröy, T.: The zinc finger transcription factor Growth factor independence 1 (Gfi1), in *Int J Biochem Cell Biol.* 2005 37(3), 541-6.
- 10) Rödel, B., Wagner, T., Zörnig, M., Niesing, J., Möröy, T.: The human homologue (GFI1B) of the chicken GFI gene maps to chromosome 9q34.13-A locus frequently altered in hematopoietic diseases, in *Genomics.* 1998 54(3), 580-2.
- 11) Karsunky, H., Zeng, H., Schmidt, T., Zevnik, B., Kluge, R., Schmid, K.W., Dührsen, U., Möröy, T.: Inflammatory reactions and severe neutropenia in mice lacking the transcriptional repressor Gfi1, in *Nat Genet.* 2002;30(3), 295-300.
- 12) Yücel, R., Karsunky, H., Klein-Hitpass, L., Möröy, T.: The transcriptional repressor Gfi1 affects development of early, uncommitted c-Kit+ T cell progenitors and CD4/CD8 lineage decision in the thymus, in *J Exp Med.* 2003 7;197(7), 831-44.
- 13) Saleque, S., Cameron, S., Orkin, S.H.: The zinc-finger proto-oncogene Gfi-1b is essential for development of the erythroid and mega-

karyocytic lineages, in *Genes Dev.* 2002 16(3), 301-6.

14) Osawa, M., Yamaguchi, T., Nakamura, Y., Kaneko, S., Onodera, M., Sawada, K., Jegalian, A., Wu, H., Nakauchi, H., Iwama, A.: Erythroid expansion mediated by the Gfi-1B zinc finger protein: role in normal hematopoiesis, in *Blood.* 2002 100(8), 2769-77.

15) Zeng, H., Yücel, R., Kosan, C., Klein-Hitpass, L., Möröy, T.: Transcription factor Gfi1 regulates self-renewal and engraftment of hematopoietic stem cells, in *EMBO J.* 2004 Oct 13;23(20), 4116-25.

Der Autor

Tarik Möröy hat in Tübingen, München und Paris Biochemie und Molekularbiologie studiert und promovierte 1987 an der Ludwig-Maximilians-Universität München mit einer Arbeit über den Zusammenhang zwischen chronischer Hepatitis B-Infektion und der Entstehung von primären Leberkarzinomen. Für dieser Arbeiten erhielt er zusammen mit Anne Dejean den „Abbott Young Investigator Award“. 1988 begann er als Stipendiat des Deutschen Akademischen Austauschdienstes (DAAD/NATO Programm) am Howard Hughes Medical Institute der Columbia Universität in New York mit Arbeiten über das onkogene Potenzial von Myc-Genen in Zellen des Immunsystems. Im Januar 1991 kehrte er nach Deutschland zurück und trat eine Stelle als unabhängiger Nachwuchsgruppenleiter am Institut für Molekularbiologie und Tumorforschung der Philipps-Universität Marburg an. Seine Forschungsarbeiten konzentrierten sich hier vor allem auf die Funktion von Regulatoren der Zellzyklusprogression bei der malignen Transformation von Immunzellen. 1994 konnte sich Möröy im Fachbereich Humanmedizin der Philipps Universität Marburg für Molekularbiologie und Immunologie habilitieren. Im selben Jahr wurde er auch zum Privatdozenten ernannt. Im Januar 1995 erhielt er einen Ruf auf die Professur „Transgene Krankheitsmodelle“ im Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg. Im Mai desselben Jahres erreichte ihn auch der Ruf auf die Professur für „Molekulare Zellbiologie“ am Institut für Zellbiologie (Tumorforschung) des Universitätsklinikums Essen und der medizinischen Fakultät der Universität Duisburg-Essen, wo er seit 1996 tätig ist. Möröy war seit 1996 insgesamt sechs Jahre geschäftsführender Direktor des Instituts für Zellbiologie und war von 2003 bis 2005 Vorsitzender des Vorstandes des neu an der Universität Duisburg-Essen gegründeten „Zentrums für Medizinische Biotechnologie (ZMB)“. Von 2000 bis 2005 war er Mitglied des Senats- und Bewilligungsausschusses für Graduiertenkollegs der Deutschen Forschungsgemeinschaft und Mitglied in mehreren wissenschaftlichen Beiräten. Im Jahr 2005 erhielt er einen Ruf auf die Position des Präsidenten und wissenschaftlichen Direktors des Institut de recherches cliniques de Montreal (IRCM).

Abwehr ist Programm

Möröy, Tarik

In: UNIKATE: Berichte aus Forschung und Lehre / Heft 27 (2006)

Dieser Text wird über DuEPublico, dem Dokumenten- und Publikationsserver der Universität Duisburg-Essen, zur Verfügung gestellt.

Die hier veröffentlichte Version der E-Publikation kann von einer eventuell ebenfalls veröffentlichten Verlagsversion abweichen.

URN: [urn:nbn:de:hbz:464-20190314-115100-6](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:hbz:464-20190314-115100-6)

Link: <https://duepublico.uni-duisburg-essen.de:443/servlets/DocumentServlet?id=48353>

Rechtliche Vermerke:

Sofern nicht im Inhalt ausdrücklich anders gekennzeichnet, liegen alle Nutzungsrechte bei den Urhebern bzw. Herausgebern. Nutzung - ausgenommen anwendbare Schrankenregelungen des Urheberrechts - nur mit deren Genehmigung.

Quelle: Druckausg. erschienen bei ESSENER UNIKATE 27, 2006, ISBN 3934359272