

Regulatorische T-Zellen (Treg) als Basismarker zum Monitoring immunmodulierender Maßnahmen

Bei den T-Lymphozyten gibt es zwei Untergruppen, die CD8-positiven hauptsächlich zytotoxischen T-Zellen und die CD4-positiven T-Helferzellen. Die CD8-positiven zytotoxischen T-Lymphozyten sind essentiell für die Immunabwehr gegen Viren, intrazellulär persistierende Bakterien, einige Pilze und Protozoen sowie Tumorzellen. Diese Zellen sind allerdings auch verantwortlich für pathologische Immunantworten wie zum Beispiel bei Autoimmunerkrankheiten oder chronischen Entzündungen. Ob eine körpereigene oder körperfremde Zielzelle von einer zytotoxischen Zelle angegriffen oder toleriert wird, entscheidet sich in einem komplexen Kontrollsystem, in dem die regulatorischen T-Zellen (Treg) die wichtigste Funktion wahrnehmen.

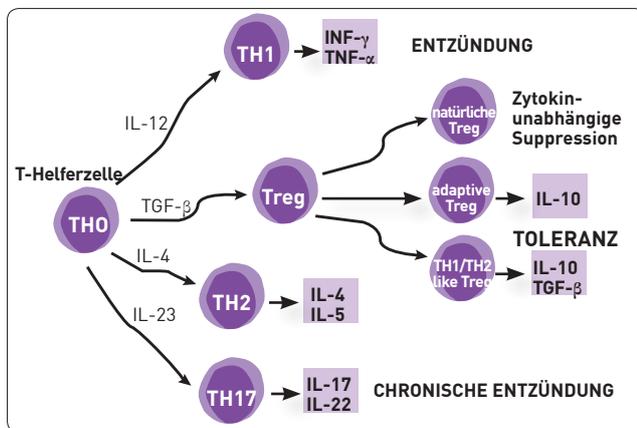


Abb. 1 Die Treg-Zellen sind die vierte Untergruppe neben den TH1-, TH2- und TH17-Zellen im Profil der T-Helferzellen.

Was bewirken Treg-Zellen?

Regulatorische T-Zellen (Treg) gehören zu den CD4-positiven T-Helferzellen. Ihr Anteil an den CD4-Zellen liegt bei ca. 10 %. Sie nehmen aufgrund ihrer spezifischen Funktion eine zentrale Rolle bei der Aufrechterhaltung der Immuntoleranz ein. Sie limitieren die Autoimmunität und Immunpathologie, indem sie suppressorisch auf T-Zell-Effektorantworten wirken und somit für eine Gegenregulation nach erfolgter Immunaktivierung sorgen. Somit werden täglich tausendfach im Organismus unerwünschte oder überschießende Immunreaktionen auf körpereigene Strukturen unterdrückt. Diese, im Falle der Autoimmunreaktionen sehr wichtige „Bremsen“ für die Immunreaktion, muss aber nicht in jedem Fall günstig sein.

Negative Rolle bei Tumorerkrankungen

Ein supprimierender Effekt wurde auch für die Immunreaktionen gegen Tumorantigene beschrieben. Regulatorische T-Zellen konnten in großer Zahl in Tumorgewebe nachgewiesen werden, wo sie Effektorfunktionen von zytotoxischen T-Zellen, NK-Zellen und anderen Immunzellen gegen Tumorantigene hemmen (siehe Tabelle). Bei T-Lymphozyten unterdrücken sie sowohl die Proliferation als auch die zyto-

toxische Aktivität. Somit unterstützen sie das Tumorstadium. Es konnte eine direkte Korrelation zwischen der Anzahl der Treg-Zellen und dem Status des Tumors nachgewiesen werden. Späte Tumorstadien zeigten dabei eine höhere Infiltration des Gewebes mit Tregs gegenüber frühen Stadien. Zudem konnte ein inverser Zusammenhang zwischen der Anzahl der Tregs im Tumorgewebe und der Überlebensrate aufgezeigt werden.

IMD Labor Berlin		Ärztlicher Befundbericht			
Durchflusszytometrische Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen					
		Normwerte		Normwerte	
Leukozyten	5600 /µl	3900 - 10200			
Lymphozyten	1238 /µl	1100 - 4500	22 %	20 - 44	
Monozyten	515 /µl	100 - 900	9 %	2 - 9,5	
Granulozyten	3847 /µl	1500 - 7700	69 %	42 - 77	
Immunkompetenz					
T-Zellen	881 /µl	920 - 2580	71 %	61 - 84	
B-Zellen	211 /µl	120 - 630	17 %	7 - 21	
NK-Zellen	100 /µl	210 - 740	8 %	10 - 30	
CD4+ T-Helferzellen	522 /µl	550 - 1460	42 %	32 - 60	
CD8+ T-Zellen	227 /µl	280 - 930	18 %	23 - 40	
naïve T-Zellen (CD45RA+)	380 /µl	300 - 1200	43 %	30 - 63	
Thymusreserve (CD31+)			51 %	> 54	
Immunkompetenz					
CD4/CD8-Ratio	2,3	1 - 3			
aktivierte T-Zellen (HLA-DR+)	38 /µl	< 230	3 %	< 11	
präaktivierte T-Zellen (CD25+)	335 /µl	< 230	27 %	< 18	
memory T-Zellen (CD45RA-)	502 /µl	300 - 1300	57 %	37 - 70	
CD8+/CD28+ (zytotoxisch)	182 /µl	238 - 448	80 %	49 - 73	
aktivierte NK-Zellen	4 /µl	< 40	3,8 %	< 17	
CD4+/CD8+ T-Zellen			0,4 %	< 5	
Immuntoleranz					
Treg (CD4+/CD25++/CD127low)	31 /µl	35 - 120	5,9 %	4 - 10	
Anteil CD39+ Treg			33 %	< 54	
CD8+/CD28- (regulatorisch)	46 /µl	100 - 370	20 %	26 - 51	
CD8/CD28-Ratio	3,98	1 - 2,8			

Abb. 2 Musterbefund: Zellulärer Immunstatus - Tumorummunität

Indikationen für die Untersuchung

Die Treg-Zellen stellen einen Verlaufsmarker bei tumorassoziierten immunmodulierenden Therapiemaßnahmen dar, vor allem insofern, dass es dabei prognostisch günstig ist, wenn diese supprimierenden Zellen im Verlauf **nicht** ansteigen.

Die Aussagekraft im Rahmen der Diagnostik von Autoimmunerkrankungen ist dagegen in der Literatur z. T. widersprüchlich. Im erfolgreichen Behandlungsverlauf von Autoimmunerkrankungen steigen die Treg-Zellen häufig an.

Haben Sie Fragen? Unser Service Team beantwortet sie gerne unter +49 (0)30 770 01-220.

Analyseverfahren

Regulatorische T-Zellen werden zytofluorometrisch anhand der Markerkonstellation CD3⁺CD4⁺CD25⁺⁺CD127^{low} aus einer EDTA-Blutprobe identifiziert (Treg-Zellen exprimieren CD127 nur schwach). Üblicherweise erfolgt die Bestimmung im Rahmen des zellulären Immunstatus (Profile: Immunkompetenz, Immunkompetenz „Tumor“ und Chronische Entzündung), kann aber, vor allem für Verlaufsuntersuchungen, auch einzeln angefordert werden.

Material

2 ml EDTA-Blut
Ein Probeneingang im Labor innerhalb von 24 Stunden (24h) muss gewährleistet sein. Das Blut sollte bei Raumtemperatur gelagert und transportiert werden.
Innerhalb der Berliner Stadtgrenzen bieten wir Ihnen unseren Fahrdienst an (+49 (0)30 77001-250), für überregionale Abholungen kontaktieren Sie bitte den kostenfreien Kurierservice unter +49 (0)30 77001-450.

Die Anforderung lautet:

Quantitative Immunprofile: Immunkompetenz, Immunkompetenz „Tumor“ und Chronische Entzündung oder (im Falle einer Verlaufskontrolle) **Treg-Zellen im Blut**.

Tab. 1 Die Tabelle wurde der Arbeit von Gallimore entnommen (siehe Literaturverweis) und stellt die Anti-Tumor-Effekte der einzelnen Immunzellen sowie die jeweils bekannten hemmenden Effekte der regulatorischen T-Zellen (Treg) gegenüber.

Table 1 Potential effects of Tregs on tumour growth			
<i>Effector cells</i>	<i>Inhibit tumour growth</i>	<i>Suppressive actions of Tregs</i>	<i>References for role of Tregs</i>
	Promote tumour growth		
CD8 ⁺ T cells	Cytotoxic through perforin/granzyme or Fas/Fas ligand Secrete IFN γ , TNF α	Suppress through TGF β	(Piccirillo and Shevach (2001); Somasundaram <i>et al.</i> (2002); Antony <i>et al.</i> (2005); Chen <i>et al.</i> (2005))
CD4 ⁺ T cells	Help priming of CD8 ⁺ T cells Cytotoxic through Fas/Fas ligand B cell help Inhibition of angiogenesis Secrete IFN γ that activates macrophages Recruitment of eosinophils through secretion of IL-4	Most functional assays of suppression are based on CD4 ⁺ cells	(Itoh <i>et al.</i> (1999)) and many more since
$\gamma\delta$ cells	Cytotoxic through NKG2D Activate $\alpha\beta$ T cells to secrete IFN γ	Not analysed	None
B cells	Generate antitumour antibodies Present tumour antigens Promote tumour growth through soluble factor; probably antibodies	Direct suppression of B cells without suppressing Th cells	(Lim <i>et al.</i> (2005))
NK cells	Cytotoxic through granzyme/perforin or Fas/Fas ligand Express FcR to mediate ADCC	Suppress cytotoxic activity Inverse correlation between NK activation and Treg numbers in cancer patients Suppress attraction of Tregs to tumour site	(Trzonkowski <i>et al.</i> (2004); Romagnani <i>et al.</i> (2005); Ghiringhelli <i>et al.</i> (2005a); Smyth <i>et al.</i> (2006b); Simon <i>et al.</i> (2007))
NKT cells	Produce Th1 and Th2 cytokines, stimulate NK and CD8 ⁺ T cells Cytotoxic Inhibit Th1 and CD8⁺ T cells through IL-13	Suppress cytokine and cytotoxic activity of NKT cells	(Azuma <i>et al.</i> (2003); Nishikawa <i>et al.</i> (2003); La Cava <i>et al.</i> (2006))
Dendritic cells	Link between innate and adaptive immune response IDO + DC induce suppression	Reduce CD80 and CD86 expression on DCs	(DiPaolo <i>et al.</i> (2007))
Macrophages	Express FcR to mediate ADCCor ADCP (phagocytosis) M1 cytotoxic through nitric oxide M2 secrete arginase, promote angiogenesis, inflammation and tumour development	Cytokine production and antigen presentation by macrophages is suppressed by Tregs in human	(Taams <i>et al.</i> (2005))
Neutrophils	Express FcR to mediate ADCC Cytotoxic through reactive oxygen species, proteases etc Proinflammatory cytokines IL1β, TNFα and IFNγ	Inhibit reactive oxygen species and cytokine production Induce neutrophil death	(Lewkowicz <i>et al.</i> (2006))
Eosinophils	Kill tumours directly High eosinophil counts are associated with good prognosis	Downregulate eosinophil function activity and recruitment (through Th2 cells?)	(Kearley <i>et al.</i> (2005))

The table summarizes the different immunological cell types (column 1) and their mode of action on modulating tumour growth (column 2). Some cells and their factors promote tumour growth (bold) and some inhibit tumour growth (non bold). The effect of regulatory T cells on these cell types is described in column 3 with references relating to regulatory T cells in column 4.

Abrechnung

Eine Abrechnung ist bei gegebener Indikation im kassen- und privatärztlichen Bereich gegeben.

Sie wollen sich einen Vortrag dazu ansehen?

Zu diesem Thema steht Ihnen in unserem Videoarchiv ein Übersichtsvortrag zur Verfügung. Der Zugang ist ohne Anmeldung und kostenfrei möglich.

inflammatioTHEK www.inflammatio.de

Literatur

- AM Gallimore *et al.* Positive and negative influences of regulatory T cells on tumour immunity. *Oncogene* 2008; 27:5586-93
- Gratz IK, Campbell DJ. Organ-specific and memory treg cells: specificity, development, function, and maintenance. *Front Immunol.* 2014 Jul 15;5:333
- Barth SD, Schulze JJ, Kühn T, Raschke E, Hüsing A, Johnson T, Kaaks R, Olek S. Treg-Mediated Immune Tolerance and the Risk of Solid Cancers: Findings From EPIC-Heidelberg. *J Natl Cancer Inst.* 2015 Aug 22;107(11).