

# **Neuroimmunologie und Neuroinflammation**

-

## **Die Immunologie der Blut-Hirn-Schranke**

**Mittwoch 22. August, 15.00 Uhr**

**Dr. med. Volker von Baehr**

1. Das Immunsystem des ZNS
2. Aufbau und Funktion der Blut-Hirn-Schranke,  
Ursachen und Folgen einer  
Blut-Hirn-Schrankenstörung
3. Pathomechanismen der Multiplen Sklerose

# Zellkomponenten des neuroimmunologischen Netzes

Zelle	Funktion	Sezernierte Zytokine
<b>Zellen des Immunsystems</b>		
■ CD4 <sup>+</sup> T-Zellen Th1	Immunregulation (Effektorfunktion)	IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-3
■ CD4 <sup>+</sup> T-Zellen Th2	Unterstützung B-Zellen Immunregulation	IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 IL-10, TNF- $\alpha$
■ T-Zellen CD8 <sup>+</sup> ,CD28 <sup>+</sup>	Zytotoxische CD8 <sup>+</sup> T-Lymphozyten	IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, Perforin
■ T-Zellen CD8 <sup>+</sup> ,CD28 <sup>-</sup>	Suppressor-CD8 <sup>+</sup> T-Lymphozyten	IL-4, IL-5, IL-10, IL-3, TGF- $\beta$
■ B-Zellen	Bildung von Antikörpern	IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$
■ Makrophagen	Phagozytose, Antigenpräsentation	TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-10, IL-12
■ NK-Zellen	Natürliche Zytotoxizität	IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$
<b>Stromazellen mit immunologischer Funktion</b>		
■ Astrozyten	Trophische Funktion Säure-Basen-Homöostase	IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$
■ Mikroglia	Präsentation der Antigene	IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-10, TGF- $\beta$
■ Oligodendrozyten	Bildung von Myelin	IL-1, TGF- $\beta$

## **Aber:**

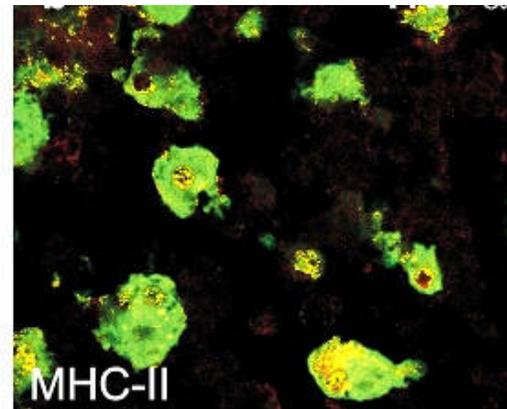
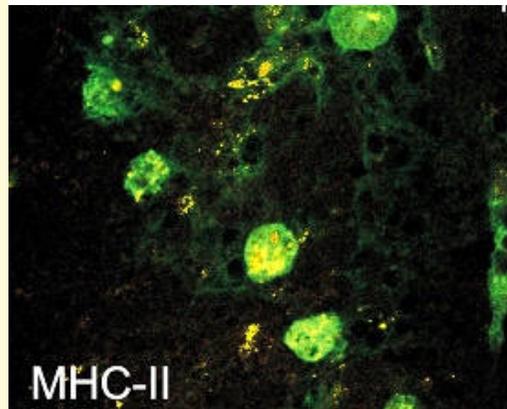
- **das ZNS ist weitgehend immunologisch privilegiert**  
(anatomisch abgegrenzt vom Blut v.a. zur Verhinderung von Autoimmunreaktionen)
  - **es gibt keinen Lymphabfluss, keine Lymphknoten**
  - **es gibt eine für Immunzellen und Immunmediatoren (fast) undurchlässige Bluthirnschranke**
  - **die Makrophagen des Gehirns sind im Ruhezustand wenig reaktiv (Schutz vor Selbstzerstörung)**

# Die Makrophagen des Gehirns (Mikroglia) exprimieren MHC-II, ICAM-1 und CD80 erst nach Aktivierung

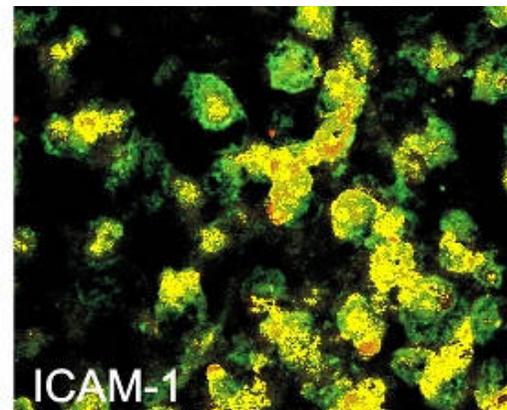
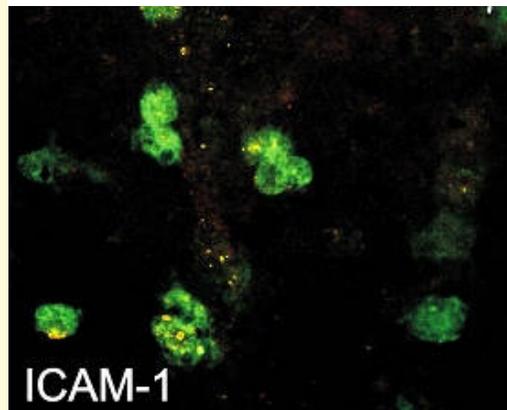
konstitutiv

aktiviert (PMA)

MHC-I-Expression



ICAM-1-Expression



## Die Blut-Hirn-Schranke ....

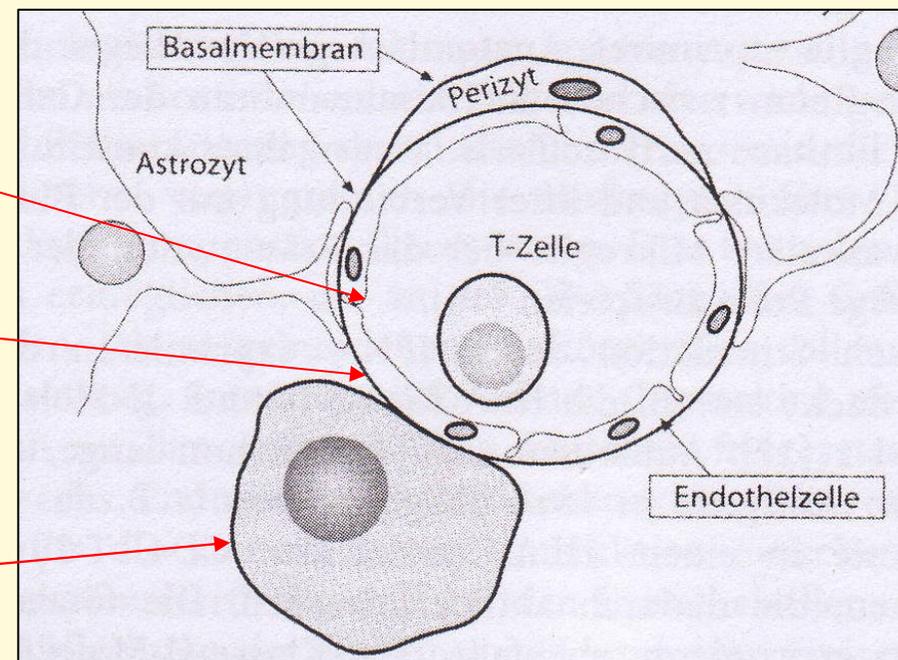
... ist eine physiologische Barriere zwischen dem ZNS und dem (systemischen) Blutkreislauf

## Was macht die Blut-Hirnschranke aus?

lückenloses Endothel mit *tight junctions*

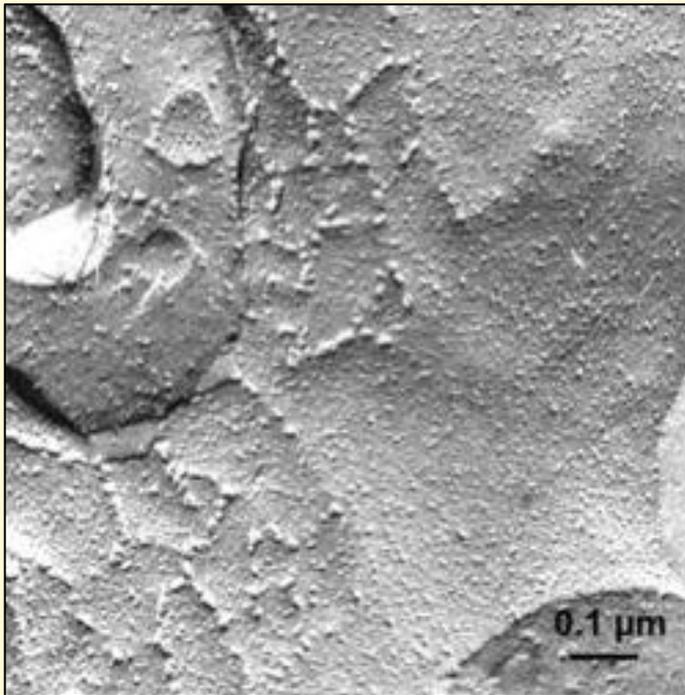
lückenlose Basalmembran

Mikroglia stellt die 2. Barriere dar (Makrophagen)



## Was macht die Blut-Hirnschranke aus ?

1. spezieller anatomischer Aufbau der Gefäßwand der Blutgefäße im Gehirn
2. verminderte Transzytose-Aktivität der Hirnendothelien



Die Endothelzellen der Hirnkapillaren sind durch „tight junctions“ abgedichtet – fehlende Fenestrierung

Elektronenmikroskopische Gefrierbruchaufnahme der *tight junctions* der Blut-Hirn-Schranke

## **Was bedeutet das funktionell ?**

- **kein Durchtritt polarer Substanzen durch die Zellzwischenräume zum Schutz des ZNS vor im Blut zirkulierenden Krankheitserregern, Toxinen, Proteinen, Zytokinen etc.**
- **geregelter Influx von Immunzellen**
- **geregelter Influx von Zytokinen**
- **Verhinderung schwankender Milieubedingungen**

**... dient alles dazu, die Milieubedingungen im Gehirn aufrecht zu erhalten und sie von denen des Blutes abzugrenzen.**

## Konkret !

- Gase ( $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $NH_3$ ,  $N_2O$ ) und lipophile Substanzen wie Alkohol, Nikotin, LSD, MDMA, Heroin, Narkosegase überwinden die BHS (auch organische Quecksilberverbindungen!)
- Wasserlösliche Stoffe müssen über die Transportsysteme der Endothelzellen **aktiv** in das Gehirn geschleust werden (Aminosäuren, Glucose, Bilirubin, .... auch gebundene und freie Metalle wie Pb, Mn, Hg)
- Zytokine über Transportsysteme z.B. für IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$ 
  - IL-6 → CRH-Induktion im Hypothalamus, Fieberregulation
  - TNF- $\alpha$  → *Fatigue*-Reaktion
  - IL1 → *Fatigue*-Reaktion und Antrieb (limbisches System)

**Daher haben systemische Entzündungen immer zentrale Effekte.**

## **Was beeinflusst die Blut-Hirn-Schranke ?**

**Arachidonsäuremetaboliten und Eicosanoide**

**Freie Sauerstoffradikale (oxidativer Stress)**

**NO° (nitrosativer Stress)**

**Histamin**

**Matrixmetalloproteinasen (auch aMMP-8)**

Paul R et al. Matrix metalloproteinases contribute to the blood-brain barrier disruption during bacterial meningitis. *Ann Neurol.* 1998;44:592-600.

**Bradykinin**

**Serotonin**

**TNF- $\alpha$ , IL-1, IFN- $\gamma$  (Inflammation)**

**PAF**

**Hyperosmotische Infusionen**

**Hirndruck, Verlust des osmotischen Gradienten , Hirnödem**

**intraererebraler Blutdruck**

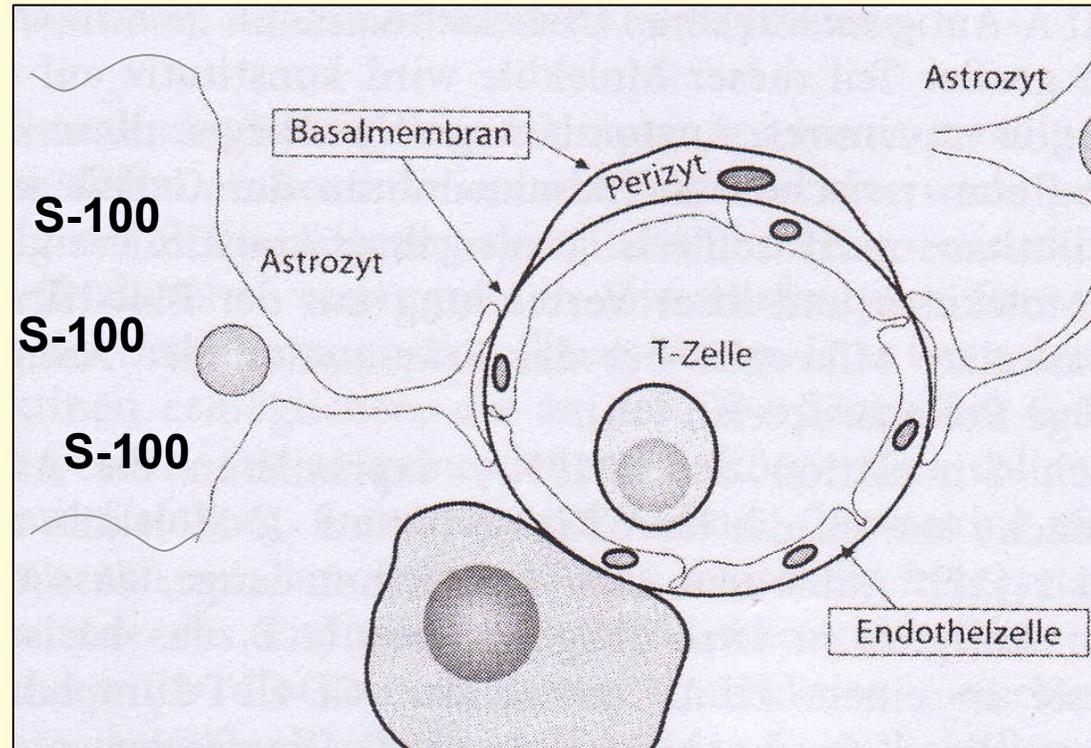
**Hypoxie (Ausfall der Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, Ausfall der Volumenregulation)**

# S-100 – ein Blut-Hirnschranken-Marker ?

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
S-100 i.S. (ECLIA)	<b>0.54</b>	µg/l	< 0.105
Sofern ein malignes Melanom ausgeschlossen werden kann, deutet der Befund bei eingehaltener Präanalytik auf eine gestörte Blut-hirn-Schrankenfunktion hin.			
Histamin (gesamt) i. Hep.-Bl. (EIA)	<b>144</b>	ng/ml	< 75
TNF-alpha i.S. (CLIA)	<b>34.1</b>	pg/ml	< 8.1
IP-10 i.Serum (PIA)	134	pg/ml	< 1072
Ein erhöhtes Histamin und TNF-a sprechen für eine bestehende systemische Entzündung. Das normale IP-10 schließt eine Beteiligung von TH1-Effektorzellen aus. Wir empfehlen zusätzlich die Bestimmung von MDA-LDL (oxidativer Stress) und Nitrothyrosin (nitrosativer Stress) zur differenzierten Erfassung der silent inflamamtion.			

**Achtung: S-100 steigt auch beim malignen Melanom an. Daher sollten bestätigte erhöhte Werte immer auch dahingehend abgeklärt werden !**

**..... solange die Präanalytik beachtet wird !**



Achtung: Das Vollblut muss innerhalb von 4 h zentrifugiert und vom Blutkuchen getrennt werden !  
Andernfalls sind falsch hohe Werte durch Freisetzung aus hämolysierten Blut-Eosinophilen zu erwarten.

# Immunologische Besonderheiten des Gehirns

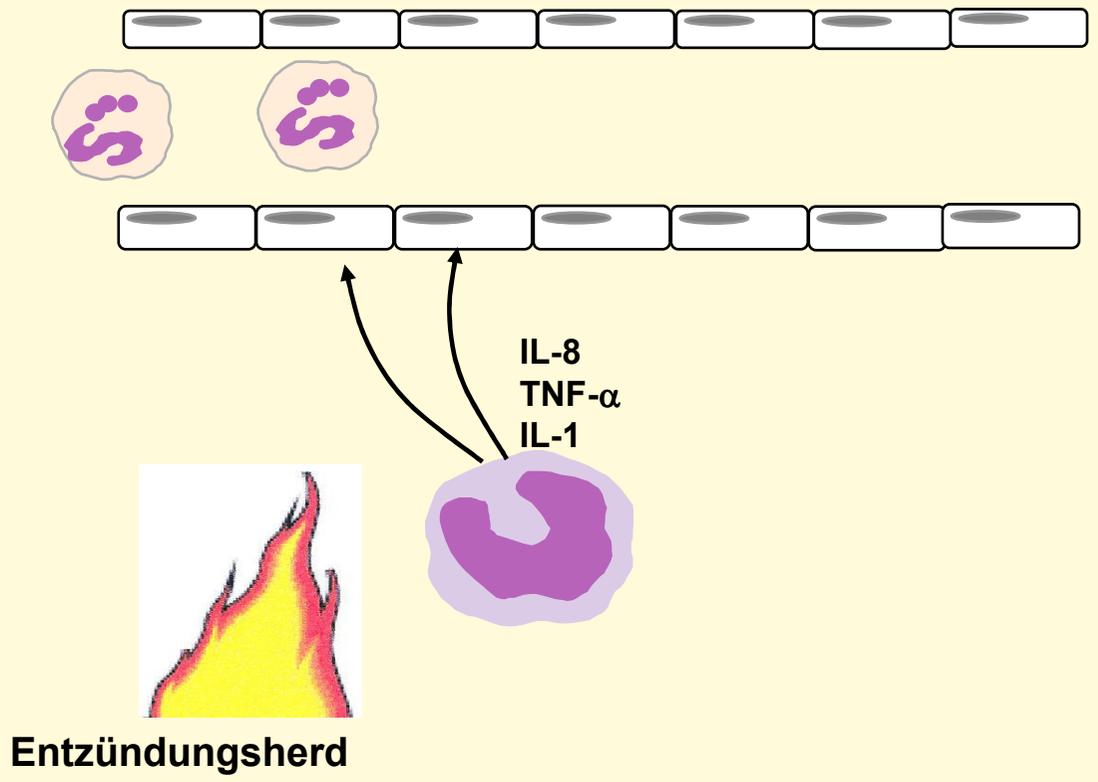
1. Blut-Hirn-Schranke
2. Keine konstitutionelle Expression von HLA-Molekülen auf Antigen-präsentierenden Zellen (APC, Mikroglia)
3. Gehirn hat kein Lymphgefäßsystem, keine Lymphknoten

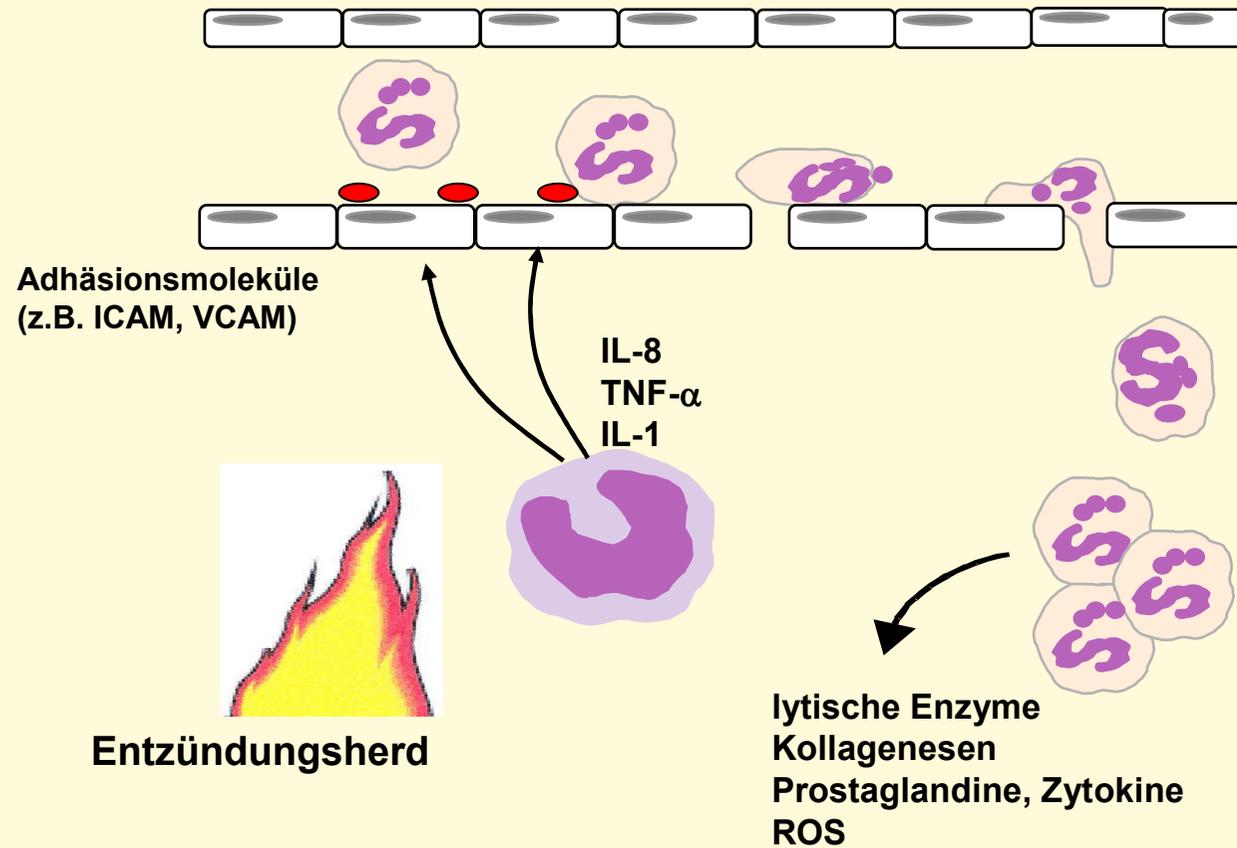
**ABER**

**Immunreaktionen laufen prinzipiell identisch wie in anderen Organen ab**

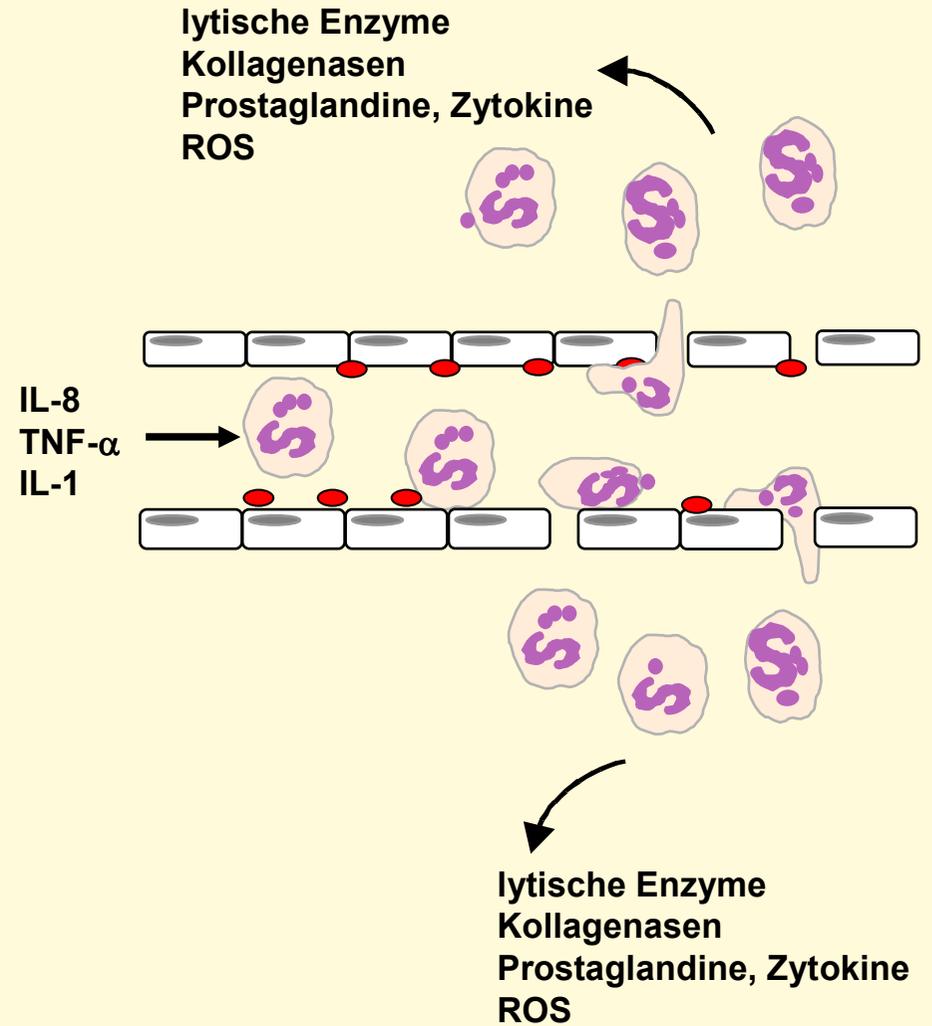
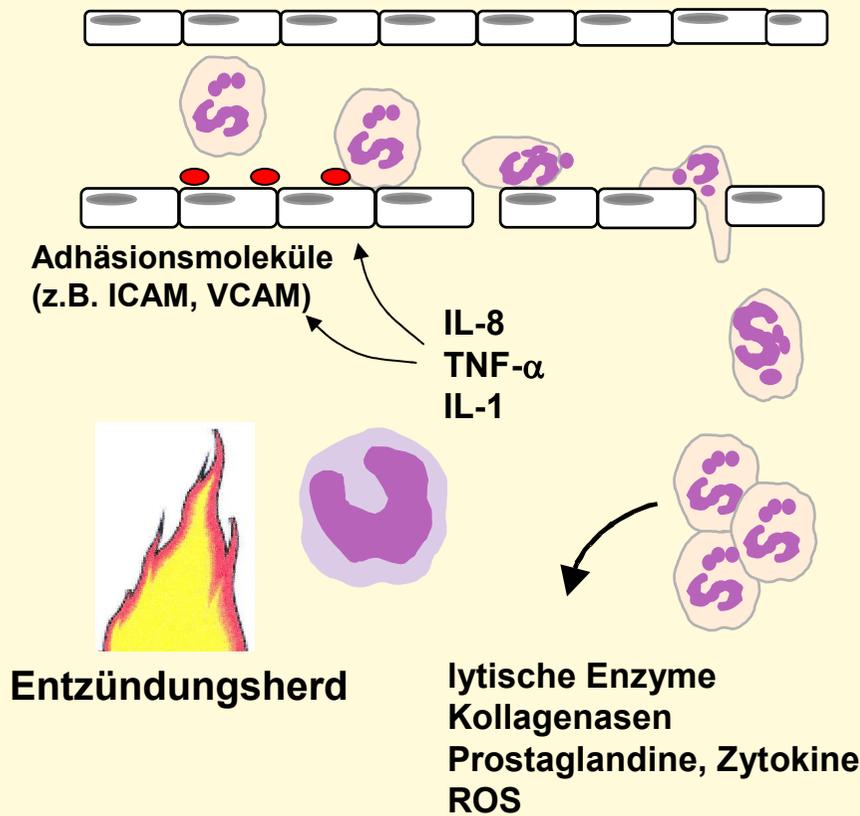
**wenn:**

1. eine Antigenpräsentation stattfindet und
2. die Blut-Hirn-Schranke durch Immunzellen überwunden wird

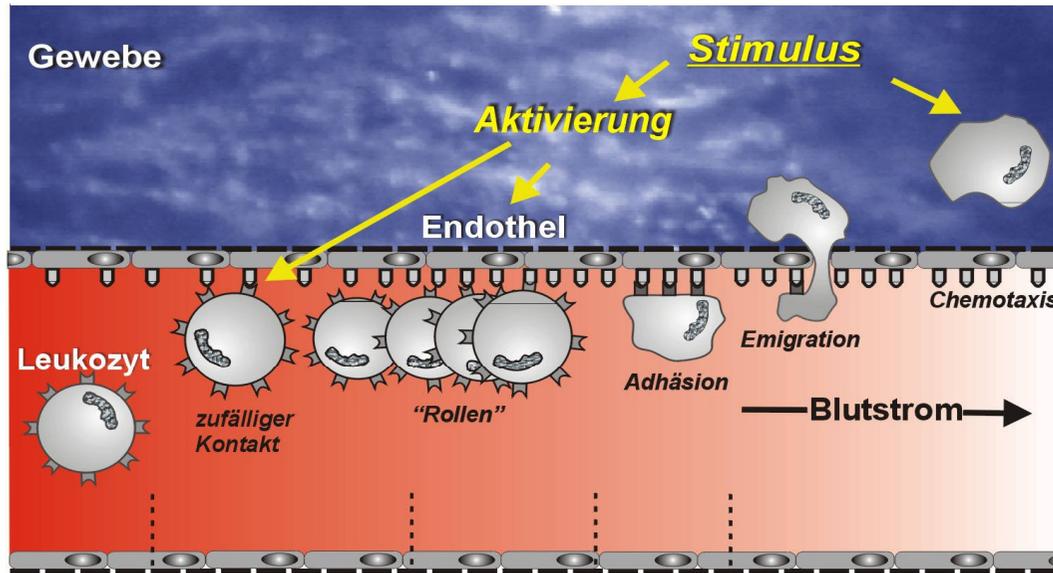




**Immunreaktionen nur  
am Entzündungsherd, weil gezielte  
Anlockung durch „Chemotaxis“**



**Bei *silent inflammation* kommt es auch im gesunden Gewebe zu Immunreaktionen, weil Adhäsionsmoleküle über den intravasalen Weg induziert werden.**



**Selectine**

- P-Selectin
- L-Selectin
- E-Selectin
- CD34; CD43
- MAcCAM-1



**Chemokine**

- C5a
- LTB4
- PAF
- IL-8



**Integrine/  
Adhäsionsmoleküle  
der Ig-Superfamilie**

- ICAM-1
- ICAM-2
- Mac-1
- LFA-1
- VCAM-1
- PECAM-1



**Induktion durch:**

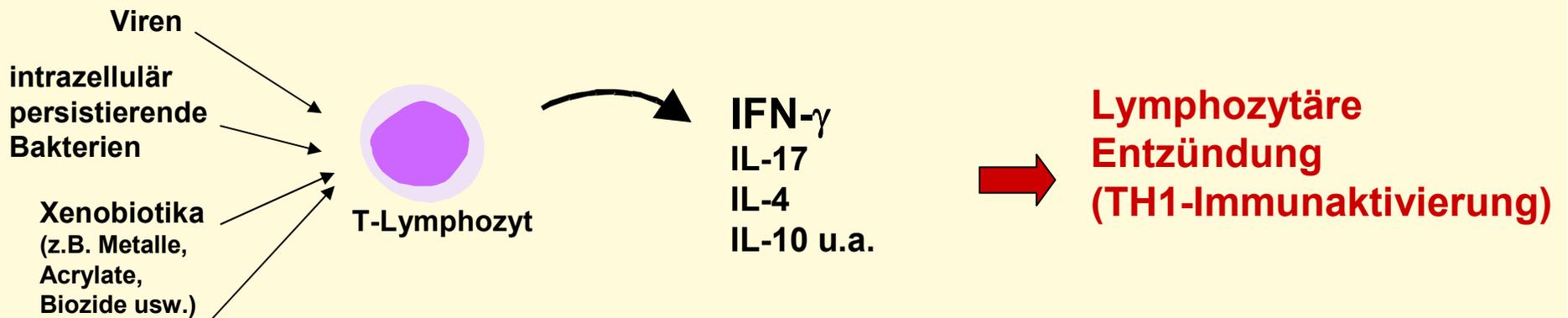
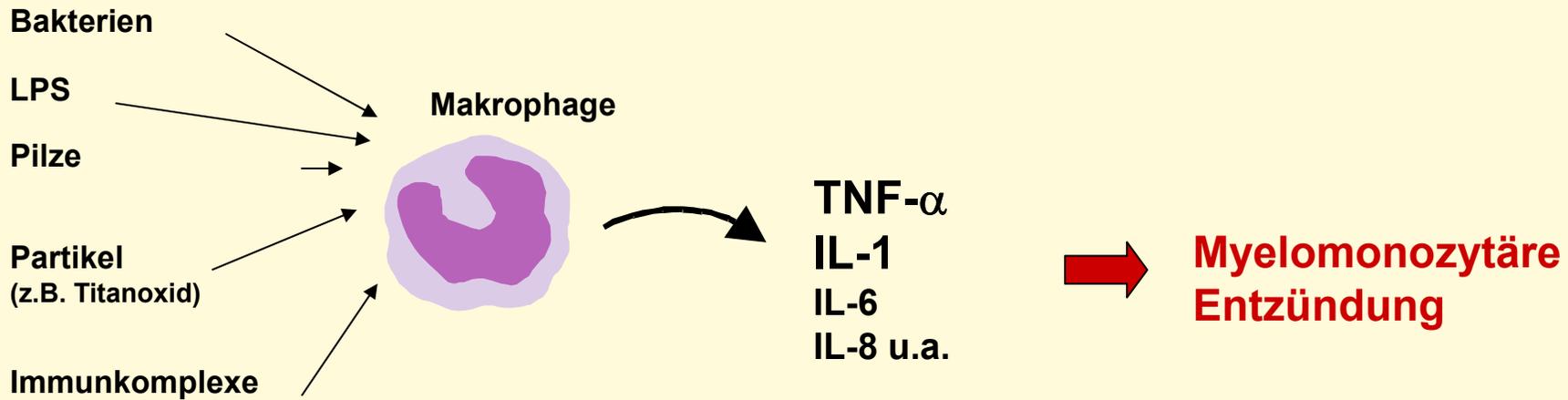
- TNF- $\alpha$
- IL1- $\beta$
- IL-8
- Histamin
- LPS

- TNF- $\alpha$
- IL1- $\beta$
- TGF- $\beta$
- Leukotriene

- TNF- $\alpha$
- IL1- $\beta$
- Histamin
- Sauerstoffradikale
- IL-6

Patient [REDACTED]	Tagebuch-Nr. <b>0326027647</b>	Geburtsdatum/Geschlecht <b>01.01.1956 / MA</b>	Institut für Medizinische Diagnostik Nicolaisstraße 22 12247 Berlin (Steglitz) Telefon 030 770 01-322 Fax 030 770 01-332
Eingang [REDACTED]	Ausgang <b>12.04.12</b>		

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
ECP i.S. (FEIA)	8.8	µg/l	< 13.3
Histamin (gesamt) i. Hep.-Bl. (EIA)	23.8	ng/ml	< 75
Kein Hinweis auf eine Mastzell-vermittelte Entzündungsreaktion			
CRP hoch sensitiv i.S. (CLIA)	2.4	mg/l	< 3.0
TNF-alpha i.S.	<b>23.6</b>	pg/ml	< 8.1
Interleukin 1-β i.S.	<b>6.1</b>	pg/ml	< 5.0
Interleukin 10 i.S.	6.1	pg/ml	< 9.1
TGF-beta i.S. (ELISA)	<b>13.6</b>	ng/ml	18.3 - 63.4
<p>TNF-a und IL1 zeigen als proentzündliche Zytokine eine deutliche systemische Entzündung an.</p> <p>Das erniedrigte antientzündlich wirkende TGF-b sowie das nicht erhöhte IL-10 unterstreichen den aktuell präsenten proentzündlich dominierten Status.</p>			
IP-10 i.Serum (ELISA)	211	pg/ml	< 1072
Kein Hinweis auf eine TH1-dominante systemische Immunaktivierung			



Patient [REDACTED]		Tagebuch-Nr. [REDACTED]	Geburtsdatum/Geschlecht [REDACTED]	Institut für Medizinische Diagnostik Nicolaistraße 22 12247 Berlin (Steglitz) Telefon 030 770 01-322 Fax 030 770 01-332
Eingang [REDACTED]	Ausgang <b>12.04.12</b>			
<b>Untersuchung</b>	<b>Ergebnis</b>	<b>Einheit</b>	<b>Referenzbereich</b>	
ECP i.S. (FEIA)	11.5	µg/l	< 13.3	
Histamin (gesamt) i. Hep.-Bl. (EIA)	34.6	ng/ml	< 75	
Kein Hinweis auf eine Mastzell-vermittelte Entzündungsreaktion				
TNF-alpha i.S.	<b>11.4</b>	pg/ml	< 8.1	
Interleukin 1-β i.S.	<b>6.9</b>	pg/ml	< 5.0	
Interleukin 10 i.S.	<5.0	pg/ml	< 9.1	
TGF-beta i.S. (ELISA)	55.8	ng/ml	18.3 - 63.4	
Lediglich leichte systemische Entzündungsreaktion				
IP-10 i.Serum (ELISA)	<b>1744</b>	pg/ml	< 1072	
Ein erhöhtes IP10 spricht für eine TH1-dominante systemische T-Lymphozytenaktivierung.				

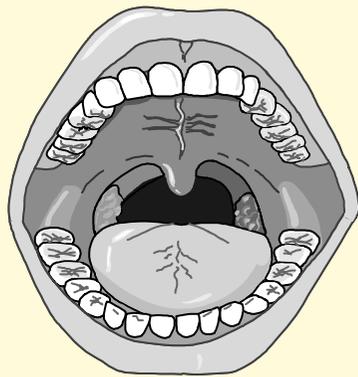
**IP-10 ist der Index-Marker für IFN-γ, d.h. TH1-Immunktivierung**

## Auch Histamin ist ein Entzündungsmediator !

Patient [REDACTED]		Tagebuch-Nr. [REDACTED]	Geburtsdatum/Geschlecht [REDACTED]	Institut für Medizinische Diagnostik Nicolaistraße 22 12247 Berlin (Steglitz) Telefon 030 770 01-322 Fax 030 770 01-332																																												
Eingang [REDACTED]	Ausgang <b>13.04.12</b>																																															
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Untersuchung</th> <th>Ergebnis</th> <th>Einheit</th> <th>Referenzbereich</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>ECP i.S. (FEIA)</td> <td><b>45.8</b></td> <td>µg/l</td> <td>&lt; 13.3</td> </tr> <tr> <td>Histamin (gesamt) i. Hep.-Bl. (EIA)</td> <td><b>122</b></td> <td>ng/ml</td> <td>&lt; 75</td> </tr> <tr> <td colspan="4">Hinweis auf eine deutliche Mastzell-vermittelte Entzündungsreaktion</td> </tr> <tr> <td>TNF-alpha i.S.</td> <td><b>9.3</b></td> <td>pg/ml</td> <td>&lt; 8.1</td> </tr> <tr> <td>Interleukin 1-β i.S.</td> <td>&lt;5.0</td> <td>pg/ml</td> <td>&lt; 5.0</td> </tr> <tr> <td>Interleukin 10 i.S.</td> <td><b>11.6</b></td> <td>pg/ml</td> <td>&lt; 9.1</td> </tr> <tr> <td>TGF-beta i.S. (ELISA)</td> <td><b>70.3</b></td> <td>ng/ml</td> <td>18.3 - 63.4</td> </tr> <tr> <td colspan="4">Lediglich leichte systemische Entzündungsreaktion</td> </tr> <tr> <td>IP-10 i.Serum (ELISA)</td> <td>733</td> <td>pg/ml</td> <td>&lt; 1072</td> </tr> <tr> <td colspan="4">Kein Hinweis auf eine TH1-dominante systemische T-Lymphozytenaktivierung.</td> </tr> </tbody> </table>					Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich	ECP i.S. (FEIA)	<b>45.8</b>	µg/l	< 13.3	Histamin (gesamt) i. Hep.-Bl. (EIA)	<b>122</b>	ng/ml	< 75	Hinweis auf eine deutliche Mastzell-vermittelte Entzündungsreaktion				TNF-alpha i.S.	<b>9.3</b>	pg/ml	< 8.1	Interleukin 1-β i.S.	<5.0	pg/ml	< 5.0	Interleukin 10 i.S.	<b>11.6</b>	pg/ml	< 9.1	TGF-beta i.S. (ELISA)	<b>70.3</b>	ng/ml	18.3 - 63.4	Lediglich leichte systemische Entzündungsreaktion				IP-10 i.Serum (ELISA)	733	pg/ml	< 1072	Kein Hinweis auf eine TH1-dominante systemische T-Lymphozytenaktivierung.			
Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich																																													
ECP i.S. (FEIA)	<b>45.8</b>	µg/l	< 13.3																																													
Histamin (gesamt) i. Hep.-Bl. (EIA)	<b>122</b>	ng/ml	< 75																																													
Hinweis auf eine deutliche Mastzell-vermittelte Entzündungsreaktion																																																
TNF-alpha i.S.	<b>9.3</b>	pg/ml	< 8.1																																													
Interleukin 1-β i.S.	<5.0	pg/ml	< 5.0																																													
Interleukin 10 i.S.	<b>11.6</b>	pg/ml	< 9.1																																													
TGF-beta i.S. (ELISA)	<b>70.3</b>	ng/ml	18.3 - 63.4																																													
Lediglich leichte systemische Entzündungsreaktion																																																
IP-10 i.Serum (ELISA)	733	pg/ml	< 1072																																													
Kein Hinweis auf eine TH1-dominante systemische T-Lymphozytenaktivierung.																																																

## Entzündungen jeglicher Art fördern ZNS-Immunreaktionen

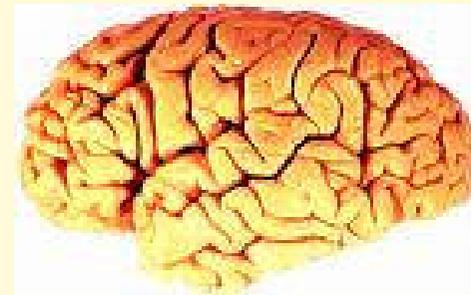
- in dem sie die Durchlässigkeit der BHS erhöhen
- in dem sie die Immunreaktivität der ZNS-Makrophagen steigern



**Lokale  
Immunaktivierung**



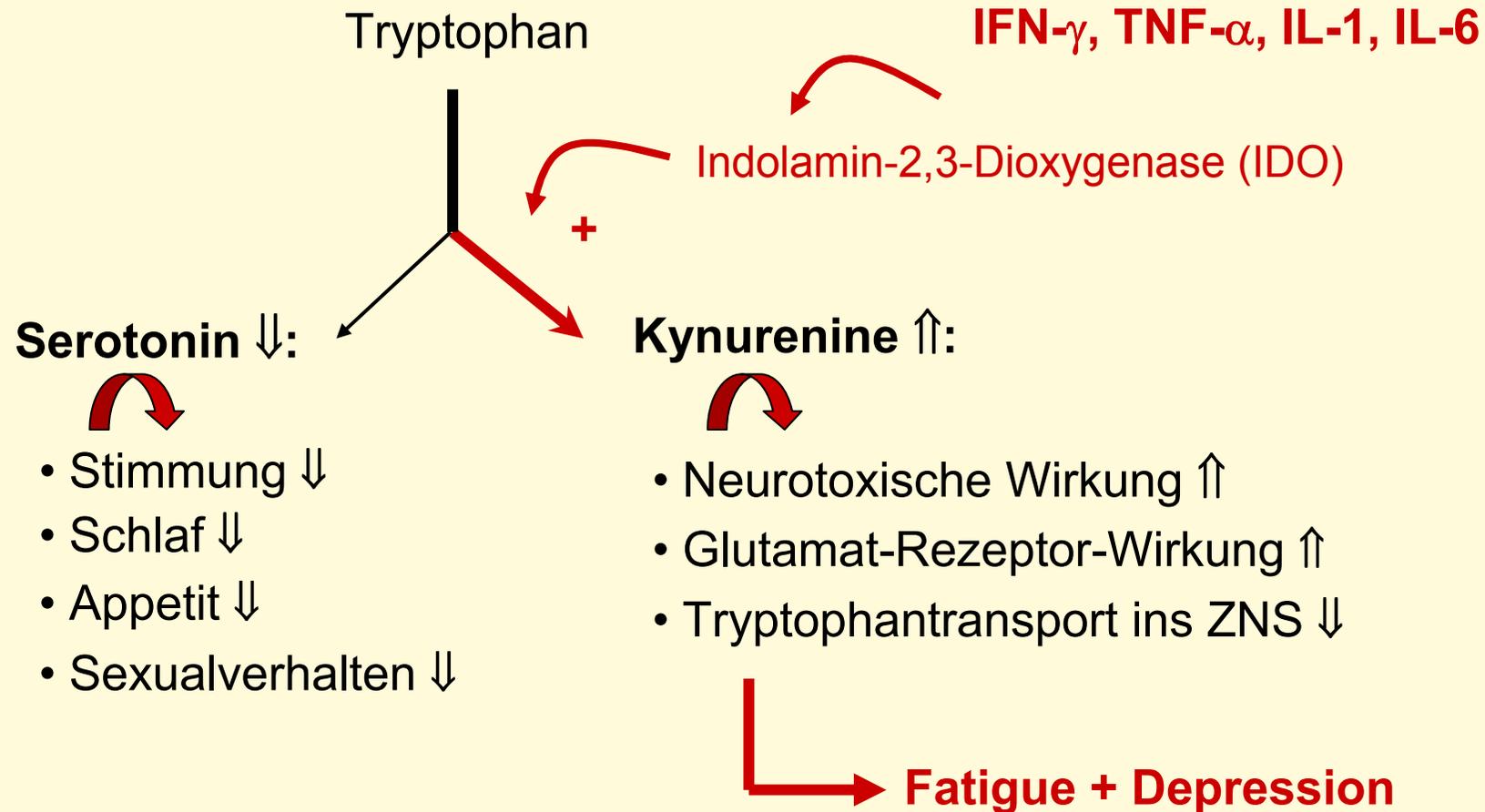
**Systemische  
Immunaktivierung**



**ZNS-Symptomatik  
ZNS-Immunaktivierung**

# Inflammation ⇒ Aktivierung der IDO ⇒ Depression

Oxenkrug, Ann N Y Acad Sci (2010)



**CAVE: keine Tryptophan-Substitution bei erhöhter IDO-Aktivität !!!**

## Ärztlicher Befundbericht

Patient [REDACTED]		Tagebuch-Nr. [REDACTED]	Geburtsdatum [REDACTED]	Institut für Medizinische Diagnostik Nicolaistrasse 22, 12247 Berlin (Steglitz) Tel. 77001-220
Eingang	<b>21.07.11</b>	Ausgang	<b>27.07.11</b>	

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
TNF-alpha i.S.	<b>15.8</b>	pg/ml	< 8.1
IP-10 i.S.	<b>1347</b>	pg/ml	< 1072
Tryptophan i.S./EDTA-Pl.	<b>0.46</b>	mg/dl	0.93 - 1.70
<b>IDO-Aktivität</b>			
Tryptophan (basal)	3.28	µg/ml	
Tryptophan (nach Aktivierung)	0.35	µg/ml	
Ratio basal / aktiviert	<b>9.4</b>		1.8 - 5.6

Bei erhöhter IDO-Aktivität wird Tryptophan beschleunigt abgebaut. Dies kann die Serotonin-Synthese im ZNS beeinträchtigen. Die Metabolite des Tryptophan-Abbaus (Kynurenine) können eine depressive Symptomatik zusätzlich verstärken.

Eine mögliche Ursache der erhöhten IDO-Aktivität ist die erhöhte Freisetzung proentzündlicher Zytokine (Entzündungsursache? Anti-entzündliche Therapie?). Erhöhte Spiegel von TNF-alpha und IP-10 zeigen eine Beteiligung des gesamten Immunsystems an.

Eine mögliche Tryptophan-Supplementierung sollte nach Normalisierung der IDO-Aktivität bzw. unter sorgfältiger Kontrolle des Tryptophan-Spiegels erfolgen, um eine Akkumulation von Kynureninen zu vermeiden.

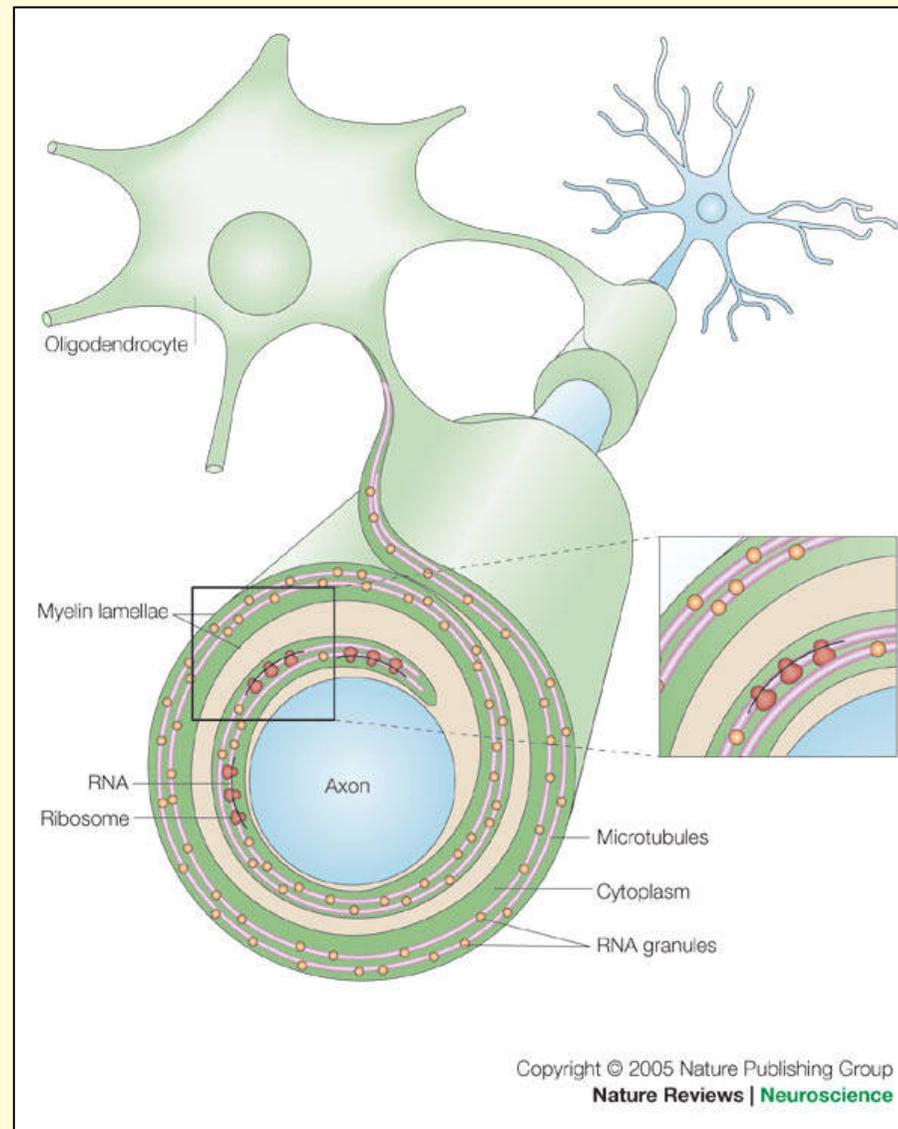
**→ Hier vorrangig ursächliche Abklärung der Entzündung und anti-entzündliche Therapie**

1. Das Immunsystem des ZNS

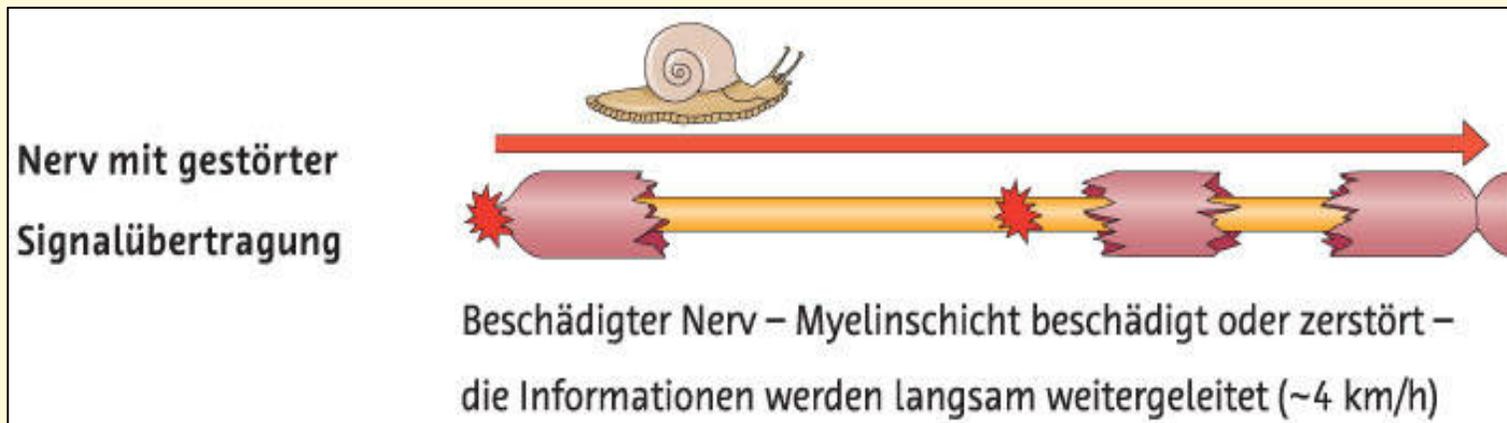
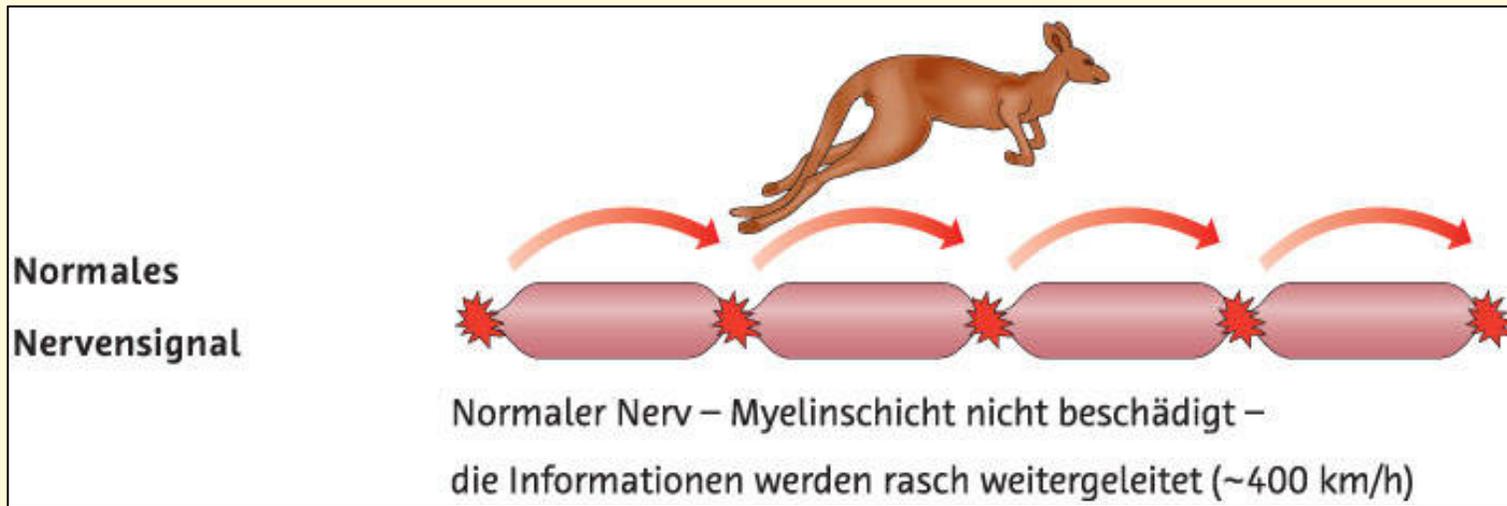
2. Aufbau und Funktion der Blut-Hirn-Schranke,  
Ursachen und Folgen einer  
Blut-Hirn-Schrankenstörung

**3. Pathomechanismen der Multiplen Sklerose**

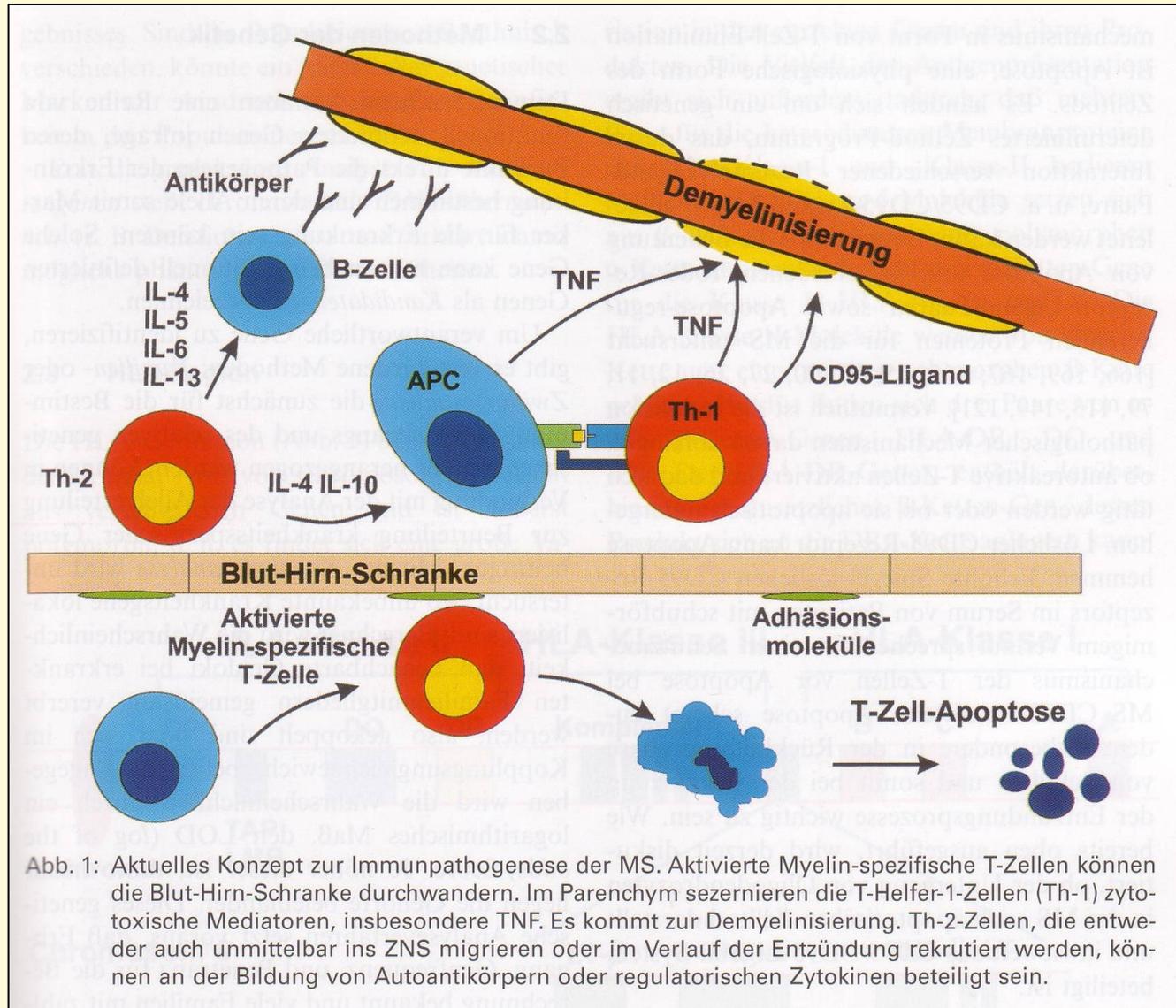
# Die Myelinscheide ist das Zielorgan der Immunreaktion bei der Multiplen Sklerose (MS)



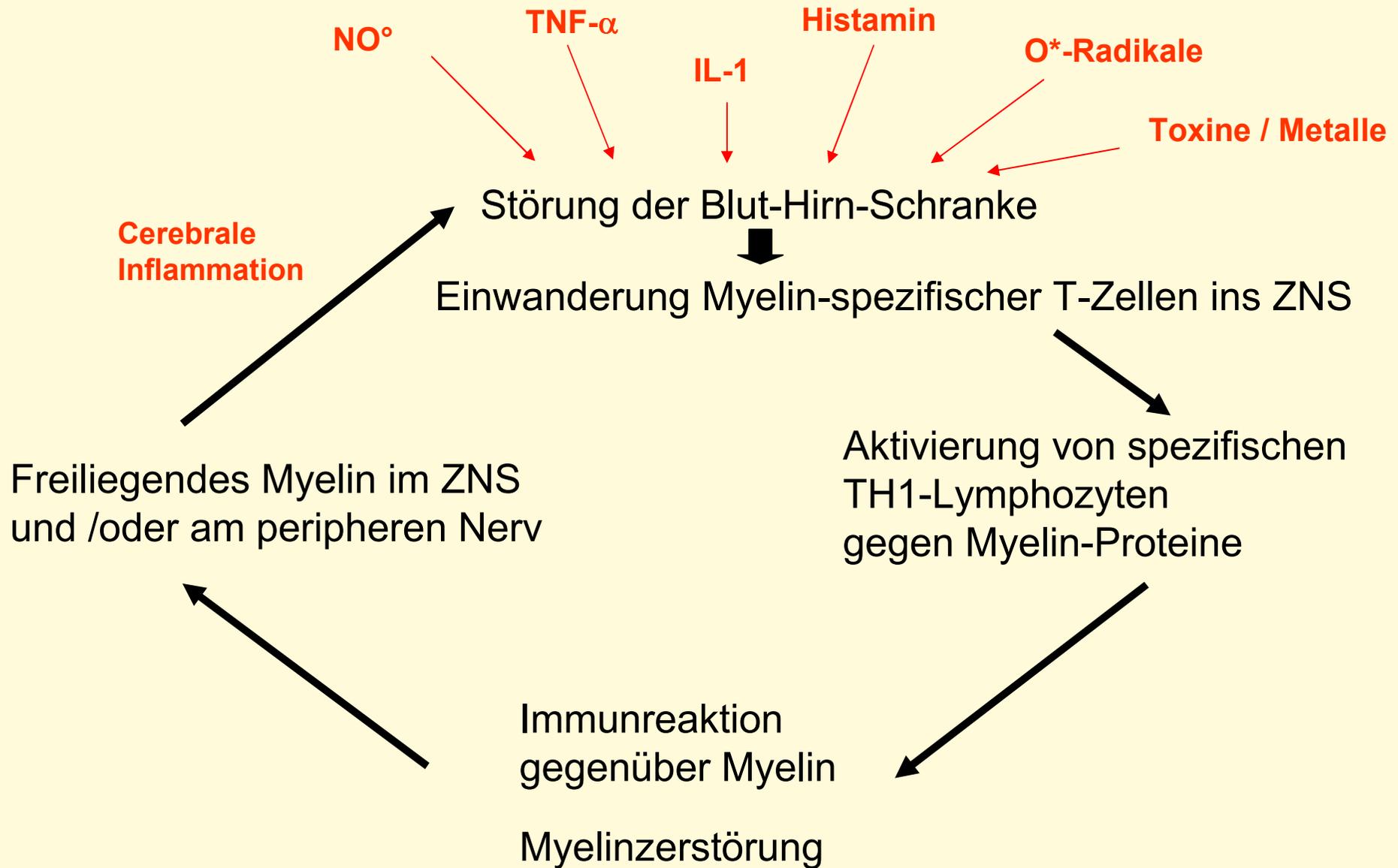
## Die intakte Myelinscheide ist essentiell für die „saltatorische“ Erregungsleitung im zentralen und peripheren Nervensystem



# In der Pathogenese der Multiplen Sklerose (MS) sind TH1-Zellen gegen Myelin-Strukturen entscheidend



# Circulus vitiosus der Myelinscheidendestruktion – Bedeutung von *silent inflammation*



# Schubförmige Verläufe sind deshalb die Regel !

## Selten

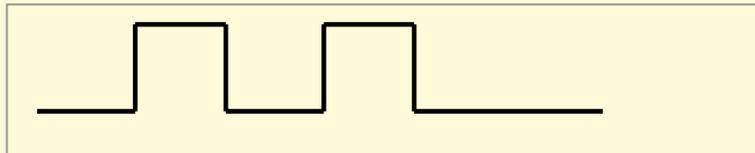


isoliertes neurologisches Defizit

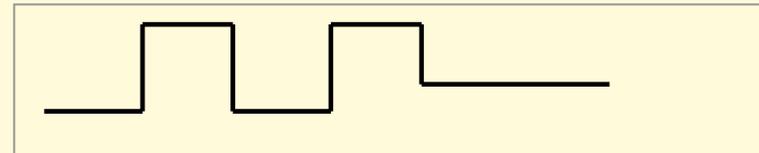


primär chronisch progredienter Verlauf ohne Schübe

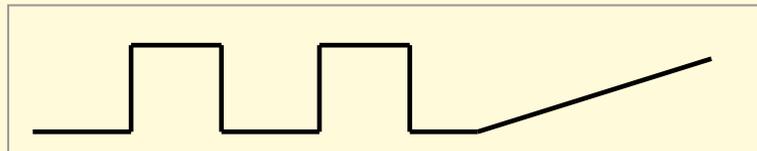
## Typischerweise in Schüben



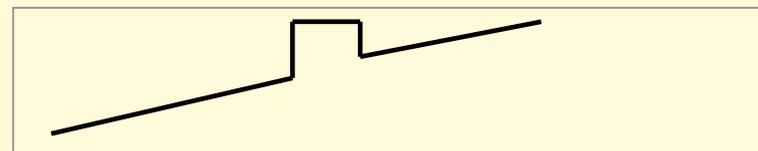
schubförmig-remittierender Verlauf mit kompletter Remission



schubförmig-remittierender Verlauf mit inkompletter Remission



sekundär chronisch progredienter Verlauf ohne Schübe



primär chronisch progredienter Verlauf mit Schüben

**D.h. Schubvermeidung = Inflamationsvermeidung**

## Report

---

### ***HLA-DR2* Dose Effect on Susceptibility to Multiple Sclerosis and Influence on Disease Course**

L. F. Barcellos,<sup>1</sup> J. R. Oksenberg,<sup>1</sup> A. B. Begovich,<sup>3</sup> E. R. Martin,<sup>4</sup> S. Schmidt,<sup>4</sup> E. Vittinghoff,<sup>2</sup>

Models of disease susceptibility in multiple sclerosis (MS) often assume a dominant action for the *HLA-DRB1\*1501* allele and its associated haplotype (*DRB1\*1501-DQB1\*0602* or *DR2*). A robust and phenotypically well-characterized MS data set was used to explore this model in more detail. A dose effect of *HLA-DR2* haplotypes on MS susceptibility was revealed. This observation suggests that, in addition to the role of *HLA-DR2* in MS, two copies of a susceptibility haplotype further increase disease risk. Second, we report that *DR2* haplotypes modify disease expression. There is a paucity of benign MS and an increase of severe MS in individuals homozygous for *DR2*. Concepts of the molecular mechanisms that underlie linkage and association of the human leukocyte antigen (HLA) region to MS need to be revised to accommodate these data.

Studiendesign:  
549 Familien  
mit MS-Historie:

808 MS-erkrankte /  
1574 nicht erkrankte

- 1. HLA-DRB1\*15:01 (serologisch DR2) ist eng assoziiert mit Multipler Sklerose.**
- 2. Gendosiseffekt = bei Trägerschaft von zwei DRB1\*15:01-Allelen (homozygot) ist das Risiko, an MS zu erkranken, noch höher als bei Trägerschaft eines DRB1\*15:01-Alleles (heterozygot).**
- 3. Bei Patienten mit zwei DRB1\*15:01-Allelen (homozygot) kommen nur selten milde Formen der MS vor. Diese Patienten zeigen vermehrt schwere Verläufe!**

## Ärztlicher Befundbericht

Patient [REDACTED]	Tagebuch-Nr. [REDACTED]	Geburtsdatum [REDACTED]	Institut für Medizinische Diagnostik Nicolaistrasse 22, 12247 Berlin (Steglitz) Tel. 77001-220
Eingang <b>21.07.11</b>	Ausgang <b>27.07.11</b>		

### Molekulardiagnostik/-Genetik

HLA-DR/DQ Klasse II (PCR)

Nachweis von HLA-DRB1\*15:01

P O S I T I V

Der Patient ist Träger von HLA-DRB1\*15:01, welches gehäuft bei Multiple Sklerose-Patienten vorkommt.

Träger des nachgewiesenen DRB1\*15:01 haben ein 4-5fach erhöhtes Risiko an Multipler Sklerose zu erkranken.

Sie müssen aber nicht zwingend erkranken, da dieses Merkmal auch bei Gesunden vorkommt.

**d.h.**

- 1. große differentialdiagnostische Bedeutung**
- 2. Intensivierung des Therapieregimes bei positiven Befunden**

# Zusammenfassung

## Eine gestörte BHS fördert:

1. pathologische Immunreaktionen im ZNS (z.B. MS)
2. Störungen biologischer Regelkreise im ZNS (z.B.IDO-Aktivität, Serotoninstoffwechsel, Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse u.a.)
3. ZNS-Symptomatik (Fatigue, Schlafstörungen, Depression) bei bestehender systemischer Inflammation

**Mediatoren einer *silent inflammation* stören auch die Blut-Hirn-Schrankenfunktion** (z.B. IL-1, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , O<sup>\*</sup>-Radikale, Histamin u.a.)

**Umweltchemikalien (Toxine, Metalle... ) hemmen direkt und indirekt (z.B. bei bestehenden Sensibilisierungen) die Schrankenfunktion**