

Immunologisches Gedächtnis

Plasmazellüberleben wird durch extrinsische Signale reguliert

REBECCA CORNELIS, ANDREAS RADBRUCH, HYUN-DONG CHANG
DEUTSCHES RHEUMA-FORSCHUNGSZENTRUM BERLIN

Secreted antibodies form the basis for protective vaccination, the most effective method of disease control to date. Plasma cells are the main producers of antibodies. A single plasma cell can secrete thousands of antibodies per second and thus forms the basis of humoral immunity of the body. While this function plays an important role to protect the body from recurring pathogens, autoreactive plasma cells secreting autoantibodies can lead to severe organ damage in diseases such as rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus.

DOI: 10.1007/s12268-020-1345-y
© Die Autoren 2020

■ Plasmazellen sind enddifferenzierte B-Zellen, die große Mengen an Antikörper sekretieren. Als langlebige Gedächtnisplasmazellen stellen sie eine unabhängige Komponente des immunologischen Gedächtnisses dar. Gedächtnisplasmazellen persistieren langfristig und sezernieren ihre Antikörper konstitutiv – bis zu 10.000 Antikörpermoleküle pro Sekunde. Es reichen daher

wenige spezifische Plasmazellen aus, um ein „humorales“ Gedächtnis und einen Schutz gegen wiederholt auftretende Krankheitserreger zu bieten. Man kann sich daher vorstellen, wie schädlich es sein kann, wenn Plasmazellen Antikörper sezernieren, die gegen Strukturen des eigenen Körpers gerichtet sind (Autoantikörper). Viele Autoimmunkrankheiten gehen mit einer

hohen Menge an Autoantikörpern einher. Das therapeutische Targeting dieser Zellen bei antikörpervermittelten Autoimmunkrankheiten dar. Klinische Studien bei Autoimmunkrankheiten zeigen, dass Autoantikörper trotz modernster immunsuppressiver Therapien persistieren, ein wahrscheinlicher Grund, weshalb diese Therapien keine Heilung erzielen.

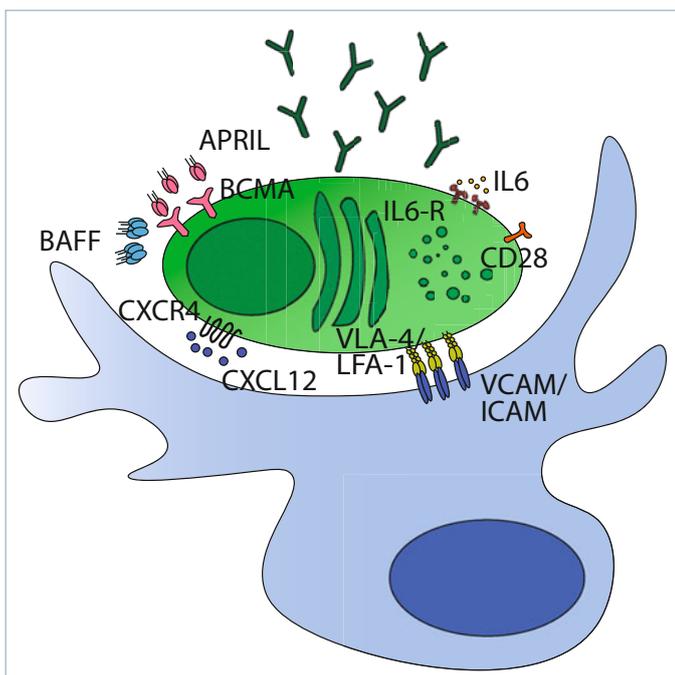
für eine therapiefreie Remission bei diesen Krankheiten.

Plasmazellen sind extrem langlebig

In der Maus und beim Menschen persistiert die Produktion spezifischer Antikörper ein Leben lang, und es wurde in mehreren Studien gezeigt, dass es die Plasmazellen selbst sind, die langlebig sind. Der direkte Nachweis der Langlebigkeit von Plasmazellen gelang durch Carbon-14-Datierung von Plasmazellen, die aus dem Darm von Menschen isoliert wurden, bei der eine mittlere Lebensdauer der Plasmazellen von mindestens 22 Jahren bestimmt wurde [1].

Die Langlebigkeit der Plasmazellen stellt wahrscheinlich die größte Herausforderung bei dem therapeutischen Targeting dieser Zellen bei antikörpervermittelten Autoimmunkrankheiten dar. Klinische Studien bei Autoimmunkrankheiten zeigen, dass Autoantikörper trotz modernster immunsuppressiver Therapien persistieren, ein wahrscheinlicher Grund, weshalb diese Therapien keine Heilung erzielen.

Erstaunlicherweise sterben Plasmazellen, sobald man sie aus dem Gewebe isoliert und versucht, *in vitro* zu kultivieren. Das zeigt, dass Plasmazellen nicht intrinsisch langlebig sind, sondern dass ihr Überleben abhängig ist von Faktoren und Signalen, die im Gewebe zur Verfügung gestellt werden [2]. Ein besseres Verständnis, wie Plasmazellen im Gewebe überleben, welche Signale sie dort zur Verfügung gestellt bekommen und wie diese Signale verarbeitet werden, wird uns



◀ **Abb. 1:** Überlebensnische der Plasmazellen. Plasmazellen überleben im Knochenmark in speziellen Nischen, die durch Stromazellen des Knochenmarks gebildet werden. Von den Stromazellen (blau) erhalten sie Überlebensfaktoren, wie unter anderem CXCL12, das an den Rezeptor CXCR4 auf den Plasmazellen (grün) bindet, sowie Zell-Zell-Kontakt durch VCAM/VLA-4- und ICAM/LFA1-Bindung. Stromazellen sekretieren zudem BAFF (*B cell activating factor*), ein Cytokin, das an den für Plasmazellen zum Überleben essenziellen Rezeptor BCMA (*B cell maturation antigen*) bindet. BCMA wird auch durch APRIL (*a proliferation inducing ligand*) aktiviert, welches von akzessorischen Zellen im Knochenmark sekretiert wird. Auch andere Faktoren wie Interleukin-6-Rezeptor(IL-6R)-Aktivierung oder CD28 wurden als wichtig für das Überleben der Plasmazellen beschrieben.

helfen diese Zellen gezielt bei Autoimmunkrankheiten anzugehen.

Zellbiologie der Plasmazellen

Eine ausdifferenzierte Plasmazelle zeichnet sich durch fehlende Migrationsfähigkeit, einen ruhenden Zellzyklus und die Sekretion von Antikörpern aus. Dafür stellt die Plasmazelle im Zuge ihrer Differenzierung ihre gesamte Zellbiologie um. Einerseits muss der Metabolismus und die Zellstruktur angepasst werden, um zu einem der leistungsfähigsten Proteinproduzenten im Körper zu werden. Andererseits wird die Plasmazelle durch die extreme Antikörperproduktion unter hohen Stress, insbesondere des endoplasmatischen Retikulum (ER), gesetzt.

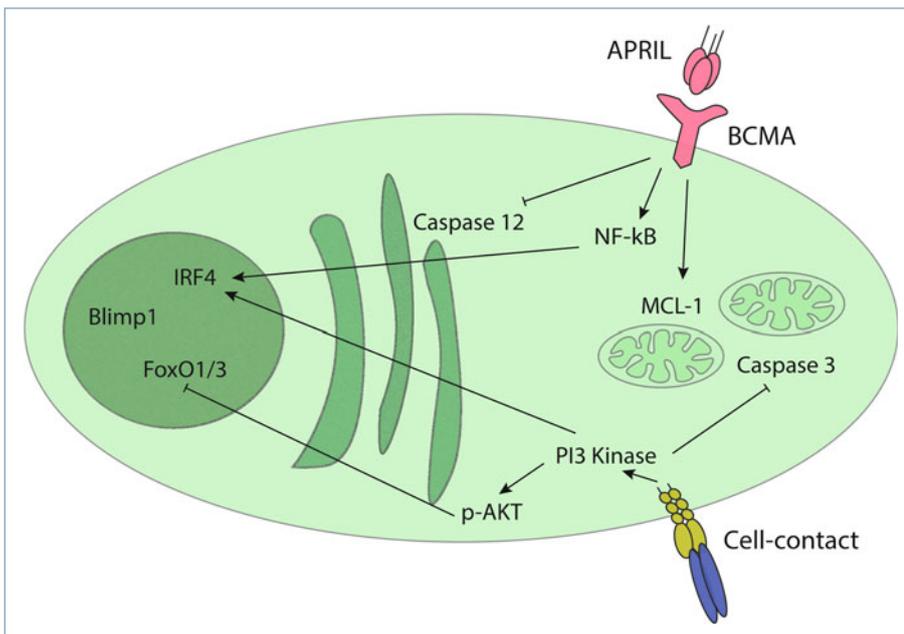
Die hohe Proteinproduktion führt unweigerlich zu der Akkumulation von missgefalteten Proteinen im ER, die in höheren Mengen in der Zelle den programmierten Zelltod (Apoptose) auslösen. Die Induktion der *unfolded protein response* (UPR) ist ein entscheidender Schritt bei der Differenzierung der Plasmazellen und essenziell für deren Überleben. Die UPR wird maßgeblich durch den Transkriptionsfaktor Xbp1 reguliert und führt unter anderem zu einer Vergrößerung des ER, vermehrter Expression von Chaperonen und einem effizienteren Abbau von missgefalteten Proteinen. Die Abhängigkeit der Plasmazelle von einer funktionierenden UPR wird auch schon therapeutisch ausgenutzt. So wird Blutkrebs mit entarteten Plasmazellen, dem multiplen Myelom, mit Proteasom-Inhibitoren behandelt. Die Blockade des Proteasoms verhindert den Abbau der missgefalteten Proteine und tötet die Plasmazellen. Das Targeting von Plasmazellen in kleineren klinischen Versuchen bei antikörpervermittelten Autoimmunkrankheiten, wie z. B. dem systemischen Lupus erythematoses (SLE), durch Inhibition des Proteasoms führte bei refraktären Patient(inn)en zu einer Linderung der Krankheit [3].

Ein weiterer Transkriptionsfaktor, *interferon regulatory factor 4* (IRF4), adressiert nicht nur die mitochondriale Homöostase und den Metabolismus von Plasmazellen, sondern ist auch essenziell für die Differenzierung zu Plasmazellen an sich, unter anderem auch durch die Regulation von Xbp1. Der Verlust von IRF4 in bereits etablierten Plasmazellen führt dort zur Apoptose. Unabhängig von IRF4 ist mit der Hochregulation des anti-apoptotischen Proteins MCL1 ein weiteres essenzielles Überlebenssignal für Plas-

mazellen beschrieben. Die Expression von MCL1 wird durch eine Signalkaskade unterhalb des Rezeptors BCMA (*B cell maturation antigen*) induziert und aufrechterhalten. MCL1 wirkt vor allem als Antagonist zum pro-apoptotischen Protein NOXA, fördert die Integrität der Mitochondrien und verhindert, dass Cytochrom *c* aus dem Mitochondrium freigesetzt wird. Die Freisetzung von Cytochrom *c* führt zur Aktivierung des Apoptosoms, was den Zelltod der Plasmazelle zur Folge hätte.

Hier steht eine Anzeige.

 Springer



▲ **Abb. 2:** Zellbiologie der Plasmazellen. Die zwei Signalwege NF-κB, aktiviert durch BCMA (*B cell maturation antigen*), und Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K), aktiviert durch Zell-Zell-Kontakt, sind essenziell für das Überleben der Plasmazellen im Knochenmark. Die Aktivierung von PI3K resultiert über p-AKT in dem Abbau von FoxO1/3 (*forkhead box O1/3*), was eine zentrale Rolle für das Überleben spielt. Weiterhin wird die Caspase-3-Aktivierung durch den Zell-Zell-Kontakt verhindert. Die Caspase-3-Aktivierung durch die Mitochondrien führt zur Apoptose der Zelle. BCMA aktiviert den NF-κB-Signalweg, der zusammen mit dem PI3K-Signalweg den essenziellen Faktor IRF4 (*interferon regulatory factor 4*) reguliert. Zudem blockiert die BCMA-Aktivierung die ER-assoziierte Caspase 12 und reguliert das anti-apoptische Protein MCL-1 hoch.

Zusätzlich gibt es noch weitere Faktoren, die essenziell oder sehr wichtig für das Überleben von Plasmazellen sind [2]. Allerdings ist immer noch nicht genau geklärt, wie die zellulären Mechanismen molekular zum Plasmazellüberleben beitragen, wie essenziell sie sind und wie viel Redundanz zwischen den verschiedenen Faktoren herrscht.

Überlebensnische der Plasmazellen

Im Knochenmark sitzen 80 Prozent der langlebigen Plasmazellen im direkten Kontakt zu VCAM1+-Stromazellen (**Abb. 1**, [4]). Die Stromazellen sind auch durch die Expression des Chemokins CXCL12 geprägt, das die Plasmazellen, die den CXCL12-Rezeptor CXCR4 exprimieren, in das Knochenmark an die Stromazelle lockt. Welche Signale die Stromazelle der Plasmazelle liefert, ist bisher nicht ganz klar. Eine Blockade der Bindung zwischen VCAM/ICAM auf Stromazellen und dessen Interaktionspartner VLA4/LFA1 auf Plasmazellen führt zur Ablation von Plasmazellen in Mäusen. Allerdings hat der klinische Einsatz von Natalizumab, einem Antikörper, der die Integrin-4-Untereinheit von VLA4 im Menschen blockiert, keinen Einfluss auf die Anzahl der Plasma-

zellen oder die Antikörpertiter [5]. Die scheinbar unterschiedlichen Ergebnisse in Mäusen und Menschen legen nahe, dass andere Integrine den Plasmazell-Stroma-Kontakt vermitteln oder die Blockade von VLA4 beim Menschen kompensieren können. Die löslichen Faktoren BAFF (*B cell activating factor*) oder APRIL (*a proliferation inducing ligand*), die an den BCMA-Rezeptor auf Plasmazellen binden, sind ebenfalls essenziell für das Überleben von Gedächtnisplasmazellen im Knochenmark. APRIL wird von anderen hämatopoetischen Zellen zur Verfügung gestellt, die die Nische mitgestalten. Wir konnten kürzlich zeigen, dass auch eine bestimmte Subpopulation von Stromazellen des Knochenmarks BAFF selbst exprimiert [6].

Um zu untersuchen, wie die Signale, die die Plasmazelle in ihrer Überlebensnische im Knochenmark erhält, auf molekularer Ebene zum Überleben der Plasmazelle führen, haben wir ein *in vitro*-System entwickelt, in dem die Signale der Knochenmarksnische nachgestellt werden können. In dem System können wir zeigen, dass Plasmazellen sowohl den direkten Zellkontakt zu Stromazellen als auch APRIL für die BCMA-Aktivierung für

ihr Überleben brauchen (**Abb. 2**). Ein wichtiger Aspekt des direkten Zell-Zell-Kontakts zwischen Plasma- und Stromazelle ist die Aktivierung der Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K) in der Plasmazelle. Die Inhibition der PI3K durch pharmakologische Inhibitoren führt zum Plasmazelltod. Ein kritischer Aspekt der PI3K-Aktivierung ist die Herunterregulierung der Transkriptionsfaktoren FoxO1 und FoxO3 (*forkhead box O1/3*). Eine künstliche Herunterregulierung von FoxO1/3 allein konnte den direkten Zellkontakt zur Stromazelle für das Überleben der Plasmazelle *in vitro* ersetzen. Ein weiterer Aspekt des direkten Zellkontakts war die spezifische Herunterregulierung der Caspase-3- und -7-Aktivierung, was darauf hindeutet, dass der Zellkontakt dem mitochondrialen Stress entgegenwirkt. Im Gegensatz dazu inhibierte die Zugabe von APRIL die Aktivierung der Caspase 12. Caspase 12 ist die Initiator-Caspase, die bei ER-Stress aktiviert wird. Dadurch scheint die NF-κB-Aktivierung unterhalb von BCMA direkt dem Zelltod durch ER-Stress entgegenzuwirken. Schließlich führten sowohl Zellkontakt als auch APRIL zu einer synergistischen Induktion der IRF4-Expression.

Unsere Daten zeigen daher, dass die Plasmazelle für ihr Langzeitüberleben mehrere nicht-redundante, synergistisch wirkende Signale in ihrer Überlebensnische zur Verfügung gestellt bekommt, die die unterschiedlichen Stressfaktoren der Plasmazelle adressieren [7].

Ein weiterer faszinierender Aspekt ist, dass sowohl in der Maus als auch im Menschen nur ca. ein Prozent aller Knochenmarkszellen Plasmazellen sind. Eine nähere histologische Analyse vom Knochenmark suggeriert, dass eine Stromazelle nur eine Plasmazelle unterstützt, sodass die Anzahl der Stromazellen die Kapazität des Plasmazellgedächtnisses bestimmt. Wie diese Restriktion auf molekularer Ebene reguliert wird, ist noch unbekannt.

Das Knochenmark als Speicher für das immunologische Gedächtnis

Das Konzept der Überlebensnische für Plasmazellen lässt sich auch auf die anderen Zellen des immunologischen Gedächtnisses – die Gedächtnis-T-Helfer(Th)-Zellen, cytotoxische Gedächtnis-T-Zellen und die Gedächtnis-B-Zellen – übertragen. Unsere und andere Forschungsgruppen haben mittlerweile gezeigt, dass auch die Gedächtnis-T- und -B-Zellen als ruhende, sich nicht teilende Zel-

len in speziellen Nischen über längere Zeiträume persistieren [8, 9]. Auch hier scheint der direkte Zellkontakt zu Stromazellen wichtig zu sein, da sich sowohl die Gedächtnis-T- als auch die Gedächtnis-B-Zellen im direkten Kontakt mit den Stromazellen befinden. Das bedeutet letztendlich, dass für ein besseres Verständnis des immunologischen Gedächtnisses auch die Zellen, die die Nischen bilden bzw. organisieren, untersucht werden müssen. Wie viele unterschiedliche Nischen gibt es? Sind die Nischen schon vorgeformt oder induzieren die Gedächtniszellen selbst die Nischenbildung? Gibt es Unterschiede zwischen den Gedächtniszellen, die uns vor Infektionen schützen, und Gedächtniszellen, die eine chronische Entzündung treiben, und kann man diese Unterschiede zu selektiven Therapieansätzen entwickeln? ■

Literatur

- [1] Landsverk OJB, Snir O, Casado RB et al. (2017) Antibody-secreting plasma cells persist for decades in human intestine. *J Exp Med* 214:309–317
- [2] Cassese G, Arce S, Hauser AE et al. (2003) Plasma cell survival is mediated by synergistic effects of cytokines and adhesion-dependent signals. *J Immunol* 171:1684–1690
- [3] Alexander T, Cheng Q, Klotsche J et al. (2018) Proteasome inhibition with bortezomib induces a therapeutically relevant depletion of plasma cells in SLE but does not target their precursors. *Eur J Immunol* 48:1573–1579
- [4] Zehentmeier S, Roth K, Cseresnyes Z et al. (2014) Static and dynamic components synergize to form a stable survival niche for bone marrow plasma cells. *Eur J Immunol* 44:2306–2317

- [5] Kaufman M, Pardo G, Rossman H et al. (2014) Natalizumab treatment shows no clinically meaningful effects on immunization responses in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 341:22–27
- [6] Addo RK, Heinrich F, Heinz GA et al. (2019) Single-cell transcriptomes of murine bone marrow stromal cells reveal niche-associated heterogeneity. *Eur J Immunol* 11:1–8
- [7] Cornelis R, Hahne S, Taddeo A et al. (2019) Stromal cell-contact dependent PI3K and APRIL induced NF- κ B signaling complement each other to prevent mitochondrial and endoplasmic reticulum stress induced cell death of bone marrow plasma cells. *BioRxiv*, doi: 10.1101/849638
- [8] Siracusa F, Alp ÖS, Maschmeyer P et al. (2017) Maintenance of CD8+ memory T lymphocytes in the spleen but not in the bone marrow is dependent on proliferation. *Eur J Immunol* 47:1900–1905
- [9] Riedel R, Addo R, Ferreira-Gomes M et al. (2019) Discrete populations of isotype-switched memory B lymphocytes are maintained in murine spleen and bone marrow. *BioRxiv*, doi: 10.1101/825224

Funding: Open Access funding provided by Projekt DEAL.

Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Dr. habil. Hyun-Dong Chang
Schwiete-Labor für Mikrobiota und Entzündung
Deutsches Rheuma-Forschungszentrum Berlin
Charitéplatz 1
D-10117 Berlin
chang@drfz.de

Hier steht eine Anzeige.

 Springer

AUTOREN



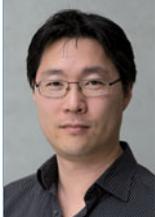
Rebecca Cornelis

Jahrgang 1993. 2011–2016 Studium Molecular Life Sciences in Hamburg. Seit 2017 Doktorandin am Deutschen Rheuma-Forschungszentrum Berlin (DRFZ).



Andreas Radbruch

Jahrgang 1952. Biologiestudium an der Universität Bonn und Promotion unter Prof. Dr. K. Rajewsky in Köln. 1980–1988 wissenschaftlicher Mitarbeiter und Hochschulassistent am Institut für Genetik der Universität Köln. 1988–1989 Bayer-Dozentur und 1990–1989 Professor für Genetik und Immunologie an der Universität Köln. Seit 1996 wissenschaftlicher Direktor am Deutschen Rheuma-Forschungszentrum Berlin (DRFZ). Seit 1998 Professor für Experimentelle Rheumatologie an der Charité – Universitätsmedizin Berlin.



Hyun-Dong Chang

Jahrgang 1973. Biologiestudium in Berlin und San Diego, USA. 2005 Promotion unter Prof. Dr. A. Radbruch. 2005–2012 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Deutschen Rheuma-Forschungszentrum Berlin (DRFZ); dort seit 2012 wissenschaftlicher Leiter der Durchflusszytometrie und Zellsortiereinheit und seit 2017 Gruppenleiter des Schwiete-Labors für Mikrobiota und Entzündung.