

Zeitverlauf der Expression der β -Chemokine MCP-1 und RANTES und ihrer Rezeptoren CCR1, CCR2 und CCR5 bei akuter Rejektion und chronischer Dysfunktion von Nierentransplantaten

Michael Ruster¹, Heide Sperschneider¹, Reinhard Fünfstück¹, Günter Stein¹, Hermann-Josef Gröne²

¹ Friedrich-Schiller-Universität Jena, Klinik für Innere Medizin IV, Funktionsbereich Nephrologie

² Abteilung Zelluläre und Molekulare Pathologie, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg

1. Einführung

Chemokine sind bedeutende Mediatoren der Chemotaxis von Leukozyten an den Ort von Entzündungsprozessen. Zur Chemokinfamilie gehören α - und β -Chemokine, Lymphotactin und Fractalkine. Die β -Chemokine zeigen ein breites Spektrum der Chemotaxis für Monozyten/Makrophagen, T-Zellen und natürliche Killerzellen.

Die Inaktivierung von Chemokinen in Modellen der allogenen Transplantation solider Organe hat gezeigt, dass die Chemokine wichtige Mediatoren bei der Induktion und Amplifikation der akuten Rejektion sind. Die Blockade der Wirkung von RANTES durch Met-RANTES verminderte die vaskuläre und tubuläre Schädigung während der akuten Rejektion von Nierentransplantaten im Tiermodell. Zusätzlich sind Chemokine an Regenerationsprozessen nach Gewebeschädigung beteiligt. In verschiedenen Modellen der nephrotoxischen Glomerulonephritis zeigte sich nach Chemokin-Rezeptor-Knockout (CCR1, CCR2) eine Zunahme der histologischen Schädigung. Bei der Entwicklung der Bleomycin-induzierten Lungenfibrose konnte eine Beteiligung von CCR1 nachgewiesen werden.

Die Kenntnisse über die Expression von Chemokinen und ihrer zugehörigen Rezeptoren bei der Rejektion von Nierentransplantaten und bei chronischer Transplantatdysfunktion sind unvollständig. Ziel dieser Studie war die Untersuchung der Expression der β -Chemokine MCP-1 (CCL2) und RANTES (CCL5) sowie ihrer Rezeptoren CCR1, CCR2 und CCR5 in Korrelation zur entzündlichen Infiltration mit aktivierten Monozyten/Makrophagen und CD8-positiven T-Zellen in Nierentransplantatbiopsien von Patienten mit akuter Rejektion und chronischer Nierentransplantatdysfunktion.

2. Patienten und Methoden

Es wurden 24 Nierentransplantatbiopsien untersucht. Sie wurden zur Klärung der Ursache einer Transplantatdysfunktion entnommen. Der Mittelwert des Serumkreatinins zum Biopsiezeitpunkt war 299 $\mu\text{mol/l}$ bei Patienten mit akuter Rejektion und 286 $\mu\text{mol/l}$ bei denen mit chronischen Transplantatveränderungen. Der mittlere Kreatininanstieg betrug 113 bzw. 91 $\mu\text{mol/l}$. Eine akute Rejektion wurde vorwiegend in der Frühphase nach Transplantation beobachtet, während chronische Transplantatveränderungen in Biopsien, die 6 Monate nach Transplantation und später entnommen wurden, auftraten.

Die primäre Immunsuppression bestand aus einer Dreifachkombination von Cyclosporin A, Azathioprin und Prednisolon, später erhielten die Patienten eine individuell angepasste Immunsuppression aus unterschiedlichen Kombinationen von Steroiden, Cyclosporin A, Tacrolimus, Azathioprin und Mycophenolat-Mofetil.

Die β -Chemokine MCP-1 und RANTES, ihre Rezeptoren CCR2 bzw. CCR1 und CCR5 wurden ausschließlich an Gefrierschnitten immunhistochemisch dargestellt. Die entzündliche Infiltration wurde mit den Markern CD14 (Monozyten/Makrophagen) und CD8 (CD8-Positive T-Zellen) charakterisiert und mit den S100-Proteinen MRP8 (Monozyten/Makrophagen bei chronischer Entzündung), MRP14 (Monozyten/Makrophagen bei akuter und chronischer Entzündung) sowie 27E10 (Monozyten/Makrophagen bei akuter Entzündung) weiter differenziert.

Die positiven Zellen wurden getrennt für Glomeruli und Tubulointerstitium quantifiziert, für die Chemokine wurde die Darstellung am Tubulusepithel semiquantitativ bestimmt. Das Ausmaß von Tubulusatrophie und interstitieller Fibrose sowie die Aktivität der vaskulären und interstitiellen Rejektion wurden ebenfalls semiquantitativ ermittelt.

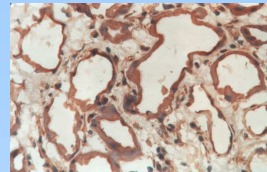


Abb. 1: RANTES ist am Tubulusepithel nachweisbar (400x).

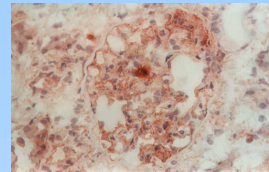


Abb. 2: Akute Rejektion. Im Glomerulus ist MCP-1 teils diffus, teils linear nachweisbar (400x).

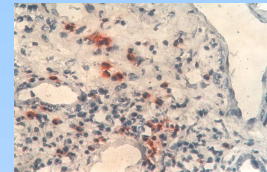


Abb. 3: Akute Rejektion. Nachweis von CCR1 in infiltrierenden mononukleären Zellen (400x).

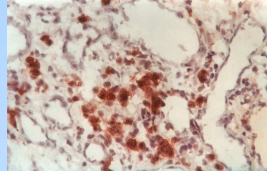


Abb. 4: Akute Rejektion. Nachweis von CCR2 in infiltrierenden mononukleären Zellen (400x).

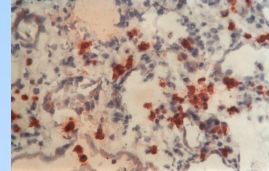


Abb. 5: Akute Rejektion. Nachweis von CCR5 in infiltrierenden mononukleären Zellen (400x).

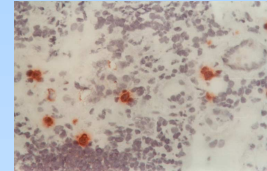


Abb. 6: Dichte Infiltrate ohne CCR5-Nachweis (400x).

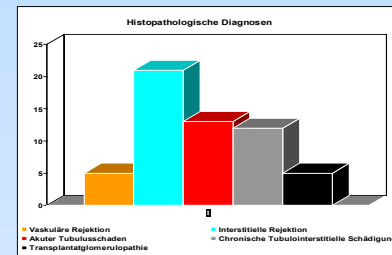


Diagramm 1: Verteilung der histopathologischen Diagnosen

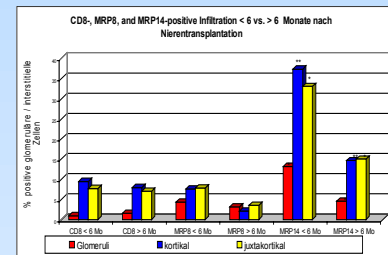


Diagramm 2: Vergleich der Infiltration mit CD8-positiven T-Zellen, MRP8- und MRP14-positiven Monozyten/Makrophagen in Glomeruli, kortikalem und juxtakortikalem Tubulointerstitium < vs. > 6 Monate nach Nierentransplantation (** = P < 0.01, * = P < 0.05).

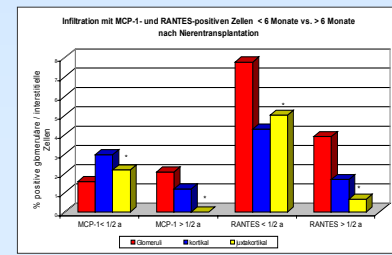


Diagramm 3: Vergleich der MCP-1- und RANTES-Expression in Glomeruli, kortikalem und juxtakortikalem Tubulointerstitium < vs. > 6 Monate nach Nierentransplantation (* = P < 0.05).

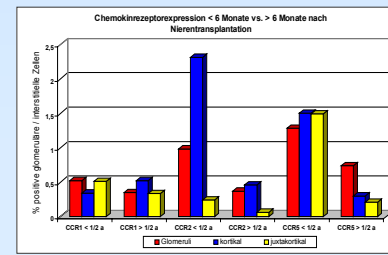


Diagramm 4: Vergleich der CCR1-, CCR2- und CCR5-Expression in Glomeruli, kortikalem und juxtakortikalem Tubulointerstitium < vs. > 6 Monate nach Nierentransplantation.

3. Ergebnisse

Es wurden die folgenden histopathologischen Diagnosen gestellt: akute vaskuläre Rejektion (n=5), akute interstitielle Rejektion (n=21), akuter Tubulusschaden (n=13), signifikante chronische tubulointerstitielle Schädigung (n=12), Transplantat-Glomerulopathie (n=5). Die Expression von MCP-1, RANTES, CCR1, CCR2 und CCR5 wurde hauptsächlich in infiltrierenden mononukleären Zellen gefunden. Folgeschritte zeigten, dass es sich bei den Chemokin- und Chemokinrezeptor-positiven Zellen vorwiegend um Monozyten/Makrophagen handelte. Zusätzlich konnte RANTES in akut geschädigtem Tubulusepithel nachgewiesen werden.

Die Infiltration der Glomeruli mit RANTES-positiven Zellen korrelierte mit der Infiltration durch CD14-positive Monozyten/Makrophagen und durch aktivierte MRP14-positive Monozyten/Makrophagen ($r=0.66$ bzw. 0.75 , $P<0.01$). Die Expression von CCR1 auf glomerulären infiltrierenden Zellen korrelierte signifikant mit der Infiltration durch 27E10-positive Monozyten/Makrophagen ($r=0.84$, $P<0.01$), ebenso zeigte sich ein Zusammenhang zwischen der CCR5-Expression und der Infiltration der Glomeruli mit CD14-positiven Monozyten/Makrophagen ($r=0.47$, $P<0.05$).

Im kortikalen Tubulointerstitium zeigten sich signifikante Korrelationen zwischen der MCP-1-, CCR2- und CCR5-Expression und der Infiltration mit Monozyten/Makrophagen: MCP-1 – MRP8: $r=0.70$, $P<0.05$; CCR2 – CD14: $r=0.55$; $P<0.05$; CCR2 – MRP8: $r=0.78$, $P<0.05$; CCR5 – CD14: $r=0.55$, $P<0.05$.

Die Zahl MRP14-positiver Monozyten/Makrophagen im kortikalen Tubulointerstitium war signifikant negativ mit der Zeit nach Nierentransplantation korreliert ($r = -0.64$, $P<0.01$). Ebenso konnte eine signifikante Abnahme MCP-1- ($r = -0.86$, $P<0.01$) und RANTES- ($r = -0.87$, $P<0.01$) exprimierender infiltrierender Zellen im juxtakortikalen Tubulointerstitium und RANTES-positiver glomerulärer Zellen ($r = -0.62$, $P<0.05$) mit Zunahme der Zeit nach Nierentransplantation beobachtet werden. Generell zeigte die Expression von MCP-1 und RANTES sowie von CCR2/CCR5 in den Glomeruli und im Tubulointerstitium einen klaren Trend zu einer geringeren Expression mit zunehmender Zeitdauer seit der Nierentransplantation und mit zunehmender chronischer Schädigung des Nierentransplantates. Im Gegensatz dazu blieb die Expression von CCR1 fast unverändert.

4. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Es besteht eine enge Verbindung zwischen Chemokin- und Chemokinrezeptorexpression und der entzündlichen Infiltration mit Monozyten/Makrophagen im Rahmen der Rejektion von Nierentransplantaten. Mit Zunahme der Zeit nach Nierentransplantation zeigt sich eine Abnahme der Chemokin- und Chemokinrezeptorexpression. Parallel dazu nimmt die Infiltration mit MRP14-positiven Monozyten/Makrophagen ab und die chronische Schädigung des Transplantates zu.

Diese Ergebnisse sind ein Hinweis auf komplexe Veränderungen der Chemokin- und Chemokinrezeptorexpression im Zeitverlauf nach Nierentransplantation. Chemokine und ihre Rezeptoren sind an der Steuerung von Entzündungsreaktionen beteiligt. Der CCR2-Rezeptor hat zusätzliche Funktionen bei der Wundheilung, während für CCR5 und besonders für CCR1 eine Beteiligung an der Entwicklung einer Fibrose gezeigt werden konnte. Ein verändertes Gleichgewicht der Expression verschiedener Chemokine und Chemokinrezeptoren könnte bei einem Wandel von akuten entzündlichen, reversiblen Veränderungen zu chronischer Entzündung, Gewebeerneuerung und Fibrose und damit bei der Entwicklung des chronischen Transplantatversagens beteiligt sein.