

## Neues therapeutisches Ziel für verschiedene Erkrankungen

# Immunregulation durch regulatorische T-Zellen

Christoph T. Berger<sup>a</sup> und Mike Recher<sup>b</sup>

Universitätsspital, Basel

<sup>a</sup> Medizinische Poliklinik und Translational Immunology, <sup>b</sup> Medizinische Poliklinik und Immunodeficiency Lab, Departement Biomedizin

### Quintessenz

- Regulatorische T-Zellen (Treg) sind wichtig für die Erhaltung der immunologischen Toleranz gegen eigenes Körpergewebe.
- Immunologische und maligne Erkrankungen sind mit quantitativen oder qualitativen Veränderungen der Treg assoziiert.
- Verschiedene Medikamente oder immunologische Interventionen zur Modulation der Treg werden in Studien getestet oder haben bereits den Weg in die Klinik gefunden.
- Treg sind daher therapeutisches Ziel bei der Behandlung u.a. von Graft-versus-Host-Erkrankung, Typ-1-Diabetes mellitus, Melanom oder Autoimmunerkrankungen.



Christoph T. Berger



Mike Recher

### Toleranz schützt vor Autoimmunität

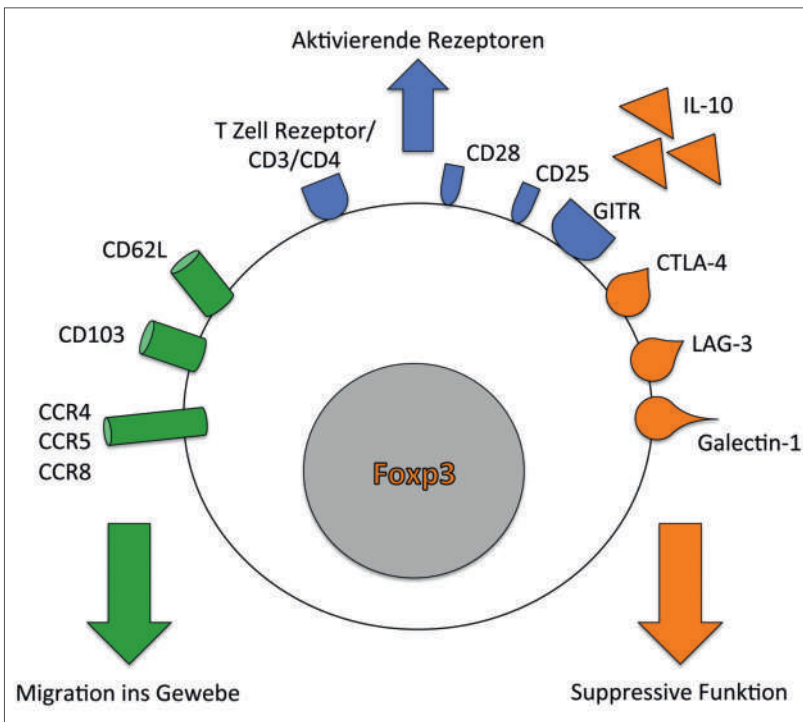
Autoimmunität kann als Verlust der immunologischen Selbsttoleranz definiert werden. Als Folge greifen Abwehrzellen, insbesondere T- und/oder B-Lymphozyten, körpereigenes Gewebe an. Damit es möglichst nicht zu Autoimmunität kommt, werden bei der Entwicklung des Immunsystems im Thymus (T-Zellen) und im Knochenmark (B-Zellen) diejenigen Lymphozyten eliminiert, welche mit ihren T- bzw. B-Zell-Rezeptoren körpereigene Proteine erkennen. Da diese sogenannte «zentrale Toleranz» jedoch nicht absolut ist, zirkulieren zudem immunregulatorische Zellen in der Körperperipherie, die überschüssig reagierende oder fehlgeleitete Lymphozyten bremsen können («periphere Toleranz»). Die am besten charakterisierten Vertreter sind die regulatorischen T-Zellen – kurz Treg. In dieser Übersichtsarbeit wollen wir diskutieren, was ein «Zuviel» oder «Zuwenig» an Treg für den Organismus bedeutet und wie diese Erkenntnisse in mögliche klinische Einsatzgebiete der Treg-Modulation in der Hämatologie, Immunologie, Onkologie und Transplantationsmedizin einfließen.



© Bmccarroll | Dreamstime.com

### Definition und Geschichte der Treg

Bereits in den 1970er Jahren wurde spekuliert, dass es Suppressorzellen gibt, welche die Fähigkeit haben, im Tiermodell Autoimmunerkrankungen zu unterdrücken [1]. Da es jedoch damals nicht gelang, den die Suppression vermittelnden Zelltyp zu charakterisieren, bestand eine längere Kontroverse über deren Existenz. Heute weiss man, dass diese Suppressorzellen – nun Treg genannt – eine Untergruppe von CD4<sup>+</sup>-T-Helferzellen sind (5–10% der CD4<sup>+</sup>-T-Zellen im peripheren Blut) [2]. Die Identifikation von Treg erfolgt mittels Durchflusszytometrie anhand der Expression der Oberflächenmoleküle CD4 und CD25 sowie des nukleären Transkriptionsfaktors «Forkhead box protein 3» (Foxp3). CD25 ist Teil des Rezeptors für das Zytokin Interleukin-2 (IL-2). Weitere gängige Marker, anhand welcher Treg identifiziert werden können – und die auch mögliche pharmakologische Angriffspunkte darstellen – sind in Abbildung 1 zusammengefasst. Die Hauptaufgabe von Treg, die Hemmung von Effektor-T-Zellen (Teff), vermitteln sie via Zell-Zell-Kontakt sowie durch Sekretion von immuno-regulatorisch wirkenden Zytokinen (IL-10 und Transfor-



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung einer Treg mit aktivierenden (blau) und supprimierenden (orange) Rezeptoren/Proteinen sowie Rezeptoren, welche die Migration von Treg ins Gewebe steuern (grün) (adaptiert nach Mottet C, Golshayan D. Swiss Medical Weekly, 2007;137:625–34).

Kurze Beschreibung für Funktion einiger Rezeptoren: **Foxp3:** Transkriptionsfaktor im Zellkern. Ohne Foxp3 entwickeln sich keine Treg. Wichtig für die Expression von Treg-typischen Rezeptoren/Zytokinen. **CD3:** verarbeitet aktivierende Signale über den Treg-Zell-Rezeptor. **CD4:** Interaktion mit MHC-Klasse-II auf dendritischen Zellen. **CD25:** Teil des IL-2-Rezeptors, aktiviert Treg. **CD28:** bindet an CD80/CD86 auf dendritischen Zellen und aktiviert Treg. **GITR:** hochexprimiert auf Treg, wichtig für Treg-Expansion nach Aktivierung. **CTLA-4:** bindet CD80/CD86 auf dendritischen Zellen und hemmt Treg-Aktivierung. **CD62L:** Selectin, verantwortlich für Gewebehoming von Treg. **IL-10:** Zytokin, wirkt hemmend auf dendritische Zellen und Monozyten. **CD127:** ist auf den meisten CD4+-T-Zellen hochexprimiert, nicht aber auf Treg.

ming Growth Factor beta [TGF-β]). Im Labor (*in vitro*) kann diese suppressive Wirkung mit sogenannten Proliferationsassays gemessen werden. Dabei hemmt die Präsenz von Treg die Zellteilung von *in vitro*-aktivierten Teff. Die wichtigste Erkenntnis über die *In vivo*-Relevanz von Treg stammt jedoch von einem seltenen genetischen Defekt im Menschen.

### Mangel an Treg – Assoziation mit Autoimmunität

1982 beschrieben Powell et al. eine Familie, in welcher über mehrere Generationen hinweg 17 Knaben an entzündlicher Diarrhoe und Autoimmunität (v.a. Typ-1-Diabetes mellitus [T1DM], oft bereits im ersten Lebensjahr) litten und meist in den ersten Lebensjahren verstarben [3]. Aufgrund der Symptome und des offensichtlich X-chromosomal rezessiven Erbganges wurde die Erkrankung *IPEX* (Immunodysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy, x-linked) genannt. Interessanterweise zeigt die sogenannte «Scurfy»-Maus, welche durch spontane Mutation im Foxp3-Gen entstanden ist, praktisch identische Veränderungen früh im (Maus-)Leben und ebenfalls nur bei männlichen Mäusen [4]. Im Jahre 2001 wurde gezeigt, dass das für den «Scurfy»-Phänotyp verantwortliche Gen – Foxp3 – ein Transkriptionsfaktor ist. Kurz darauf fand man entsprechende Mutationen auch im humanen Foxp3-Gen von IPEX-Patienten [5]. Weiter konnte gezeigt werden, dass Foxp3 wichtig für die Entwicklung von Treg ist. In der Tat finden sich bei IPEX-Patienten oft keine oder nur sehr wenige Treg [6]. Somit konnte erstmals ein kausaler Link zwischen Treg und Autoimmunität gemacht werden. IPEX-Patienten haben auffällig mehr autoreaktive B-Zellen als Gesunde. Es ist mechanistisch also durchaus möglich, dass die Treg-Mangel-assoziierte Autoimmunität

**Tabelle 1:** Treg-Anzahl bei Autoimmunerkrankungen.

Erkrankung	Treg (im peripheren Blut)	Referenzen
IPEX	↓ – ↓↓↓	[6]
T1DM	↓/=	[43]
Akute GvHD	=	[44, 45]
Chronische GvHD	↓/↓	[46, 47]
Immunthrombopenie	↓	[48]
Aplastische Anämie	↓	[49]
Systemischer Lupus erythematodes	=/↓	[50, 51]
Sjögren-Syndrom	=/↓	[52, 53]
Rheumatoide Arthritis	↓ (↑ in Synovia)	[54]
Multiple Sklerose	=	[55, 56]
Entzündliche Darmkrankheit	↓ (↑ in Synovia)	[57, 58]
Kryoglobulinämische HCV-assoziierte Vaskulitis	↓	[59]

IPEX = Immunodysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy, x-linked; T1DM = Typ-1-Diabetes mellitus; GvHD = Graft vs Host Disease; HCV = Hepatitis-C-Virus.

teilweise durch die autoreaktiven B-Zellen bzw. durch Autoantikörper vermittelt wird [7].

In der Folge oben genannter Erkenntnisse haben unzählige Studien die Frequenz und Funktion von Treg bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen studiert. Dabei wurde versucht – analog zu den entsprechenden Mausmodellen –, ein Zusammenhang zwischen Treg und insbesondere T1DM, Systemischem Lupus erythematoses (SLE) oder Multipler Sklerose (MS) herzustellen [8]. Insgesamt zeigten diese Studien, dass es kein universelles Autoimmunitätsprofil der Treg-Anzahl oder -Funktion gibt, dass jedoch eine Reduktion von Treg-Anzahl und/oder -Funktion bei gewissen Autoimmunerkrankungen beobachtet werden kann. Die Ergebnisse dieser Studien sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Wichtig ist anzumerken, dass die Frage der Kausalität zwischen den Veränderungen und der Krankheitsentstehung offen bleibt bzw. dass sekundäre Veränderungen durch die Erkrankungen selber (oder auch die immunmodulierende Therapie) ebenfalls möglich sind.

### Überschuss an Treg – Hemmung der Tumorummunität

Bei vielen Krebserkrankungen findet sich eine Immunantwort gegen das entartete Gewebe. Dies ist bisher am besten für das Melanom beschrieben. Tumorspezifische T-Zellen können bei Melanompatienten im Blut und auch im Tumor selber nachgewiesen werden, und der adoptive Transfer von Patienten mit *ex vivo*-expandierten tumorspezifischen T-Zellen hat bei einem kleinen Teil der Patienten mit metastasiertem Verlauf erstaunliche Resultate gezeigt [9]. Da die körpereigene Tumorabwehr jedoch praktisch nie zur Selbstheilung von Tumorerkrankungen ausreicht, müssen immunregulatorische Mechanismen im Tumorgewebe aktiv sein, welche die Tumorummunität hemmen. Mehrere Studien haben demonstriert, dass Treg bei Melanompatienten im peripheren Blut, im Primärtumor und auch in Metastasen massiv vermehrt sind [10]. Da die Treg aus dem Tumorgewebe funktionell (also wirksam in der Unterdrückung von Teff) sind, können sie die Immunantwort gegen den Tumor hemmen [10]. Dies scheint von klinischer Relevanz zu sein, da ein hohes Verhältnis zwischen Treg und Teff im Tumorgewebe mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist [11–13]. Umgekehrt führt eine Depletion von Treg im Tiermodell zu einer verstärkten tumorspezifischen Abwehr, was mit einer deutlichen Tumorreduktion einhergeht [10, 14]. Insgesamt scheint also ein «Zuviel» an Treg schlecht für die körpereigene Krebsbekämpfung zu sein.

### Treg-modulierende klinische Interventionen

Aus unseren bisherigen Ausführungen geht hervor, dass es verschiedene therapeutische Einsatzgebiete für eine Treg-Modulation gibt. Während diese bei Autoimmunerkrankungen und der Transplantationsmedizin auf eine Treg-Aktivierung/Vermehrung zielen sollte, müsste bei Krebserkrankungen eine Treg-Depletion erfolgen, um die Anti-Tumor-Antwort zu stärken. Beides müsste idealerweise die autoreaktiven oder tumorspezifischen Teff-Zellen unbeeinflusst lassen. In der Folge wollen wir nun Strategien aufzeigen, welche bisher angewendet wurden, um die Treg-Frequenz oder -Funktion therapeutisch zu beeinflussen [15, 16].

#### Vermehrung von Treg

##### Adoptiver Treg-Transfer

Die Infusion von körpereigenen, evtl. im Reagenzglas modifizierten Abwehrzellen erhält immer mehr Einzug in die moderne Medizin [17]. Auch in der Schweiz gibt es an universitären Zentren «good manufacturing practice (GMP) facilities», die Voraussetzung sind, um solche zellulären Therapien durchführen zu können und zu dürfen.

In Anbetracht der wichtigen toleranzerhaltenden Funktion der Treg ist die Erwartung an einen adoptiven Treg-Transfer, dass eine überschüssige Teff-vermittelte Abwehrreaktion unterdrückt werden könnte. Was bei der Maus bereits funktioniert, ist ein aktives Forschungsgebiet in der Transplantationsimmunologie und in der Behandlung von Autoimmunerkrankungen [18]. Dabei gibt es mehrere kritische Schritte bis zum sicheren Einsatz in der Klinik:

1. Grosse Mengen an Treg werden für eine *In vivo*-Wirksamkeit benötigt, was potente *In vitro*-Treg-Expansionsprotokolle bedingt.
2. Die konventionelle Definition von Treg (CD4+CD25+Foxp3+) beinhaltet nicht nur Zellen mit suppressiver Funktion, sondern auch kürzlich aktivierte Teff (siehe Abschnitt am Ende dieses Artikels), was kontraproduktiv sein könnte. Dies kann möglicherweise mit der Verwendung von Treg aus Nabelschnurblut umgangen werden, das praktisch keine Antigen-spezifischen Teff enthält [19].
3. Es gibt Hinweise, dass *In vivo*-Treg sich in einem proinflammatorischen Milieu möglicherweise in Teff, vor allem in Interleukin-17 (IL-17) produzierende Teff, transformieren könnten, was logischerweise einen gegenteiligen Effekt haben könnte [20].

**Tabelle 2:** Therapeutische Anwendung der Treg-Modulation beim Menschen.

Intervention	Krankheit	Effekt	Referenzen
<b>Treg-Expansion</b>			
Adoptiver Transfer	GvHD	Prävention von GvHD, weniger Leukämie-Rezidive post-Transplant	[19, 22, 60]
	Transplantation von soliden Organen (Leber/Niere)	Noch keine publizierten Studien	n/a
	T1DM	Verbesserung von C-Peptid-Spiegeln	[43]
Low Dose IL-2	Chronische GvHD	Zunahme Treg, klinische Besserung in 50% der Patienten	[61–63]
	T1DM	Zunahme Treg, Abnahme C-Peptid	[29, 64]
	HCV-assoziierte Vaskulitis	Zunahme Treg, Abnahme Kryoglobulin und Vaskulitis, keine Zunahme der HCV-Virämie	[28]
Spezifische Immuntherapie (SIT), Desensibilisierung	Allergien	Treg-Erhöhung, Mastzell- und IgE-Reduktion	[30, 65]
<b>Treg-Depletion</b>			
Anti-CD25 (Daclizumab)	Melanom	Vollständige (99%) Treg-Depletion. Hemmt Anti-Tumor-Immunantwort. Kein Effekt auf Überleben	[33]
Anti-CD25-Immunotoxin	Melanom	Milde bis gute (51–71%) Reduktion oder Treg. Kein Effekt auf Anti-Tumor-Immunantwort	[34, 66]
Denileukin Diftitox (IL-2-Diphtherietoxin-Fusionsprotein)	Melanom, Nierenzellkarzinom	Milde Treg-Reduktion, Einfluss auf Anti-Tumor-Antwort variabel	Reviewed in [10]
<b>Treg-Modulation</b>			
Anti-CTLA-4 (Ipilimumab, Yervoy®)	Melanom	Verbessertes Überleben	[35]

GvHD = Graft vs Host Disease; T1DM = Typ-1-Diabetes mellitus; HCV = Hepatitis-C-Virus.

Treg-Transfusion wurde mittlerweile v.a. mit der Indikation GvHD in klinischen Studien getestet [19, 21, 22]. Stammzelltransplantationsempfänger wurden dabei mit aus Nabelschnurblut isolierten Treg [22] oder mit nicht expandierten (sogenannten natürlichen) nTreg behandelt [19]. Die Treg-Transfusion war nebenwirkungsarm und reduzierte den GvHD-Schweregrad, aber nicht die Gesamtinzidenz von GvHD. Die erste Studie einer Treg-Transfusion bei Autoimmunerkrankungen wurde mit 10 Kindern mit neudiagnostiziertem T1DM durchgeführt [23]. Vier Monate nach der nTreg-Infusion hatten die behandelten Kinder eine fast zweifach höhere endogene Insulinproduktion und benötigten zweimal weniger Insulin. Interessanterweise waren zwei der mit Treg behandelten Patienten auch nach fast einem Jahr weiterhin ganz ohne eine Insulintherapie. Dies wurde als Hinweis gewertet, dass die Treg-Infusion möglicherweise den Krankheitsverlauf (z.B. Inselzelldestruktion) verlangsamt hat. Wichtig ist zu betonen, dass der frühe Einsatz der Treg-Transfusion (in der Diabetesstudie innerhalb zweier Monate nach Diagnose) wahrscheinlich essentiell für deren Wirksamkeit ist. Dies wird auch durch Tiermodelldaten gestützt, welche eine Wirksamkeit nur vor erfolgter Inseldestruktion zeigen konnten.

Die Resultate von humanen klinischen Studien mit adoptivem Treg-Transfer sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Aktuell sind mehrere weitere Studien registriert und rekrutieren Patienten mit GvHD, T1DM, Leber- und Nierentransplantation. Die Chance ist somit gross, dass wir in naher Zukunft öfters von Treg-Behandlungen hören werden [24].

*Zytokin-medierte Vermehrung von Treg in vivo*  
IL-2 ist ein autologer T-Zell-Wachstums- und Homöostasefaktor, welcher von aktivierten T-Zellen in grossen Mengen ausgeschüttet wird [25]. In hoher – Teff aktivierender – Dosierung wird IL-2 bereits seit Jahren beim metastasierten Nierenzellkarzinom und -melanom eingesetzt, in der Hoffnung, die Tumormunität zu verstärken [26]. Wie in der Einführung erwähnt, ist IL-2 durch Bindung an den auf Treg besonders stark exprimierten Rezeptor CD25 auch kritisch für die Entwicklung und das Überleben von Treg [27]. Entsprechend wurde versucht, mit niedrigdosiertem IL-2 selektiv die Treg zu beeinflussen. Bei prädiabetischen Mäusen, welche mit IL-2 behandelt wurden, zeigte sich eine Erhöhung der Treg-Zahl und eine reduzierte Inzidenz von Diabetes, ohne dass dabei Effektor-T-Zellen (CD8+) aktiviert wurden [25]. Ähnliche Effekte wurden auch im Tiermodell der MS (ex-

perimentelle autoimmune Encephalomyelitis), der Myasthenia gravis und Transplantationsabstossung gezeigt [25].

Beim Menschen zeigte ein Low-dose-IL-2-Trial sehr gute klinische Resultate bei Patienten mit kryoglobulinämischer Hepatitis-C-Virus-(HCV-)assoziierter Vaskulitis. Die Therapie führte zu einem signifikanten Anstieg der Treg im Blut und nur zu einem minimalen Anstieg der HCV-Virämie. Die Kryoglobulinmenge nahm bei fast allen Patienten ab, und eine klinische Besserung der Vaskulitis zeigte sich ebenfalls bei fast allen Patienten [28]. In einer Phase-I/II-Studie war niedrigdosiertes IL-2 auch in Diabetikern von einer Zunahme der Treg begleitet, allerdings nahmen, zumindest initial, die C-Peptid-Spiegel, ein Mass für die residuale Inselzellfunktion, ab [29]. Die Sicherheit einer solchen Behandlung wird nun auch bei multiplen anderen entzündlichen Autoimmunerkrankungen, u.a. SLE, RA und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, untersucht.

#### *Treg-Induktion durch spezifische Immuntherapie (SIT) bei Allergien*

Allergische Soforttypreaktionen, exemplarisch bekannt nach Bienen- oder Wespenstichen, können durch SIT (auch besser bekannt als «Desensibilisierungstherapie») mit repetitiver Gabe von hohen Allergendosen gebessert oder vollständig aufgehoben werden [30]. Die dafür verantwortlichen Immunmechanismen sind vielfältig und erst in den letzten Jahren aufgeschlüsselt worden [30]: Unter SIT kommt es langfristig zu einer Abnahme der allergenspezifischen IgE bei gleichzeitiger Zunahme von allergenspezifischem IgG4. Auch die Effektorzellen der allergischen Soforttypreaktion, die Mastzellen, nehmen in der Haut/Schleimhaut unter SIT ab. Ein wichtiger, früh nach Beginn der SIT aktiver Mechanismus scheint die Vermehrung von Foxp3+/IL-10-produzierenden Treg zu sein [30]. Die SIT könnte theoretisch also auch bei anderen Indikationen ausserhalb der Allergien als Treg-Modulator getestet werden.

#### **Treg-Depletion**

Treg gelten als Verhinderer einer potenten Anti-Tumor-T-Zellantwort (siehe oben). Im Mausmodell konnte eine Depletion von Treg durch einen CD25-spezifischen monoklonalen Antikörper die Tumormunität und das tumorfreie Überleben der Mäuse erhöhen [31]. Eine einzelne Dosis eines humanisierten *Anti-CD25-Antikörpers (Daclizumab)* (1 mg/kg) depletiert die Treg im Menschen für rund 4 Wochen mit Normalisierung der Anzahl und Funktion der Treg nach 8 Wochen [32]. Da CD25 auch auf Teff exprimiert

wird, und einige davon durch den monoklonalen Antikörper ebenfalls depletiert werden, wurde entsprechend bei weiteren humanen Studien eine niedrigere Dosis gewählt, um präferentiell die CD25-hochexprimierenden Treg zu treffen [33]. Damit wurde ebenfalls eine fast vollständige Depletion der peripheren Treg (99%) erreicht [33]. Die Impfantwort gegen eine anschliessend verabreichte Tumorpflanzung war jedoch nicht besser als ohne die Behandlung, und es fand sich auch kein Effekt auf das progressionsfreie Überleben in dieser Patientengruppe mit metastasiertem Melanom [33]. Etwas weniger effizient in der Reduktion der Treg (71%), aber genauso wirkungslos, war der Einsatz eines *Anti-CD25-Immunotoxins* in kleinen Fallgruppen [34]. Somit sind wohl noch ausgefeiltere Therapien nötig, um gezielt das Treg-Kompartiment zu hemmen. Eine solche könnte die Behandlung mit einem blockierenden *Antikörper gegen CTLA-4 (Ipilimumab)* sein, der einen lebensverlängernden Effekt bei Patienten mit metastasiertem Melanom zeigt [35]. Da die Aktivierung von CTLA-4 die immunsuppressiven Effekte der Treg induziert (Abb. 1) [35], scheint der Wirkmechanismus teilweise über eine Aufhebung der Treg-Funktion zu gehen. Passend dazu kann es unter Behandlung mit Ipilimumab zu autoimmunen Kolitiden kommen, ähnlich den in der Einführung beschriebenen IPEX-Patienten. Ipilimumab ist in der Schweiz unter dem Namen Yervoy® zur Behandlung des metastasierten Melanoms zugelassen. Zusammenfassend gibt es mehrere Ansätze, wie Treg reduziert werden könnten. Auch wenn diese beim Menschen effektiv die periphere Treg-Zahl zu reduzieren vermögen, steht der klinisch durchschlagende Erfolg noch aus. Die bereits publizierten humanen Studien zur Treg-Modulation sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

#### **Wo Treg draufsteht, ist nicht immer Treg drin**

Die Mehrheit der diskutierten Treg-Marker (Abb. 1) (CD4+/CD25+, aber auch Foxp3) ist nicht spezifisch für humane Treg, sondern findet sich auch auf Teff. Ebenso werden Treg und Teff über gleiche Moleküle (T-Zell-Rezeptor, co-stimulatorische Proteine wie CD28) aktiviert. Die Unterscheidung von Treg und Teff ist somit mitunter schwierig. Historisch hatte der Neglect dieser Tatsache bereits fatale Folgen. Ein monoklonaler Antikörper gegen das T-Zell-co-stimulierende Molekül CD28 (TGN1412) aktivierte in Mäusen vor allem Treg und dämpfte Autoimmunität [36, 37]. Bei einer humanen Phase-I-Studie des Antikörpers an gesunden Probanden kam es jedoch zu einer un-

selektiven Aktivierung der Teff mit konsekutivem Zytokinsturm mit drohendem Multiorganversagen und Tod [38].

Auch werden gelegentlich *in vivo*-Effekte manchmal fälschlicherweise Treg zugeschrieben. Die Depletion vom Treg-Zytokin IL-2 durch monoklonale Antikörper führt in Mäusen zu verstärkter Teff-Proliferation *in vivo* [39], was man lange durch eine Depletion von Treg erklärte. In der Tat führt jedoch der Antikörper über Bildung von langlebigen IL-2/Anti-IL2-Immunkomplexen zu einer massiv erhöhten IL-2-Bioaktivität und damit stärkerer Teff-Aktivierung [39]. Auch wirkt IL-2 auf verschiedenste Immunzellen (z.B. Natürliche-Killer-(NK-)Zellen), weshalb der genaue Wirkmechanismus von IL-2-modulierenden Therapien manchmal schwierig zu entschlüsseln ist [40]. Eine weitere Limitierung können Falschannahmen, generiert aus artifiziellen Systemen, sein. So gibt es eine transgene Maus, bei der die Foxp3+-Zellen selektiv den Diphtherie-Rezeptor exprimieren, der sonst in Mäusen nicht vorkommt. Dieser Trick erlaubt, durch eine Behandlung mit Diphtherietoxin selektiv die Treg aus Mäusen zu entfernen [41]. Werden solche Treg-depletierte Mäuse mit dem Lymphozytären Choriomeningitis-Virus (LCMV) infiziert, so sterben sie rasch an einer überschiessenden Abwehrreaktion [42]. Ein Ergebnis, welches theoretisch gut durch das Fehlen der Treg erklärbar wäre. Nur starben auch LCMV-infizierte Wildtyp-Mäuse, welche mit Diphthe-

rietoxin behandelt wurden [42]. Da Wildtyp-Treg den Diphtherie-Rezeptor nicht exprimieren, können sie in den Wildtyp-Mäusen nicht depletiert worden sein. In diesem weit verbreiteten Treg-Modell können also immunologische Effekte nicht nur durch eine Treg-Depletion zustande kommen, sondern auch durch eine rezeptorunabhängige Immunmodulation durch das Diphtherietoxin. Die Übertragung von so generierten Treg-Resultaten auf den Menschen muss deshalb immer vorsichtig erfolgen.

Zusammenfassend möchten wir festhalten, dass die Regulation von Immunantworten sehr komplex ist und Treg nur einen (wohl durchaus wichtigen) Teil davon darstellen. So wie der Kliniker anhand einer Symptomkonstellation an verschiedene Differentialdiagnosen denken sollte, so müssen auch bei Effekten von immunologischen Manipulationen verschiedene mechanistische Erklärungsmodelle kritisch evaluiert werden.

#### Danksagung

Wir danken Prof. Lukas Jeker für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

#### Finanzierung / Interessenkonflikte

Die Autoren haben keine finanziellen oder persönlichen Verbindungen im Zusammenhang mit diesem Beitrag deklariert. CTB [PZooP3-148000] und MR [PPooP3-144863] werden unterstützt durch den Schweizerischen Nationalfonds (SNF).

#### Literatur

Die vollständige nummerierte Literaturliste finden Sie unter [www.medicalforum.ch](http://www.medicalforum.ch).

---

Korrespondenz:  
Prof. Dr. med. Mike Recher  
FMH Innere Medizin und  
Allergologie/Klinische  
Immunologie  
Leiter Immundefizienz  
Sprechstunde  
Medizinische Poliklinik  
Forschungsgruppenleiter  
Immunodeficiency Lab  
Departement Biomedizin  
Universitätsspital Basel  
CH-4031 Basel  
[mike.recher\[at\]usb.ch](mailto:mike.recher[at]usb.ch)

## Immunregulation durch regulatorische T-Zellen

## Immuno-régulation par les lymphocytes T régulateurs

### Literatur / Références

1. Waldmann, T.A., et al., Disorders of suppressor immunoregulatory cells in the pathogenesis of immunodeficiency and autoimmunity. *Ann Intern Med*, 1978. 88(2): p. 226–38.
2. Maloy, K.J. and F. Powrie, Regulatory T cells in the control of immune pathology. *Nat Immunol*, 2001. 2(9): p. 816–22.
3. Powell, B.R., N.R. Buist, and P. Stenzel, An X-linked syndrome of diarrhea, polyendocrinopathy, and fatal infection in infancy. *J Pediatr*, 1982. 100(5): p. 731–7.
4. Brunkow, M.E., et al., Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet*, 2001. 27(1): p. 68–73.
5. Wildin, R.S., et al., X-linked neonatal diabetes mellitus, enteropathy and endocrinopathy syndrome is the human equivalent of mouse scurfy. *Nat Genet*, 2001. 27(1): p. 18–20.
6. Torgerson, T.R. and H.D. Ochs, Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked: forkhead box protein 3 mutations and lack of regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol*, 2007. 120(4): p. 744–50; quiz 751–2.
7. Kinnunen, T., et al., Accumulation of peripheral autoreactive B cells in the absence of functional human regulatory T cells. *Blood*, 2013. 121(9): p. 1595–603.
8. Costantino, C.M., C.M. Baecher-Allan, and D.A. Hafler, Human regulatory T cells and autoimmunity. *Eur J Immunol*, 2008. 38(4): p. 921–4.
9. Rosenberg, S.A., Raising the bar: the curative potential of human cancer immunotherapy. *Sci Transl Med*, 2012. 4(127): p. 127ps8.
10. Jacobs, J.F., et al., Regulatory T cells in melanoma: the final hurdle towards effective immunotherapy? *Lancet Oncol*, 2012. 13(1): p. e32–42.
11. Curiel, T.J., et al., Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med*, 2004. 10(9): p. 942–9.
12. Knol, A.C., et al., Prognostic value of tumor-infiltrating Foxp3+ T-cell subpopulations in metastatic melanoma. *Exp Dermatol*, 2011. 20(5): p. 430–4.
13. Quezada, S.A., et al., CTLA4 blockade and GM-CSF combination immunotherapy alters the intratumor balance of effector and regulatory T cells. *J Clin Invest*, 2006. 116(7): p. 1935–45.
14. Onizuka, S., et al., Tumor rejection by in vivo administration of anti-CD25 (interleukin-2 receptor alpha) monoclonal antibody. *Cancer Res*, 1999. 59(13): p. 3128–33.
15. Riley, J.L., C.H. June, and B.R. Blazar, Human T regulatory cell therapy: take a billion or so and call me in the morning. *Immununity*, 2009. 30(5): p. 656–65.
16. Singer, B.D., L.S. King, and F.R. D'Alessio, Regulatory T cells as immunotherapy. *Front Immunol*, 2014. 5: p. 46.
17. Yee, C., The use of endogenous T cells for adoptive transfer. *Immunol Rev*, 2014. 257(1): p. 250–63.
18. Miyara, M., K. Wing, and S. Sakaguchi, Therapeutic approaches to allergy and autoimmunity based on FoxP3+ regulatory T-cell activation and expansion. *J Allergy Clin Immunol*, 2009. 123(4): p. 749–55; quiz 756–7.
19. Di Ianni, M., et al., Tregs prevent GVHD and promote immune reconstitution in HLA-haploidentical transplantation. *Blood*, 2011. 117(14): p. 3921–8.
20. Sugiyama, D., et al., Anti-CCR4 mAb selectively depletes effector-type FoxP3+CD4+ regulatory T cells, evoking antitumor immune responses in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013. 110(44): p. 17945–50.
21. Trzonkowski, P., et al., First-in-man clinical results of the treatment of patients with graft versus host disease with human ex vivo expanded CD4+CD25+CD127– T regulatory cells. *Clin Immunol*, 2009. 133(1): p. 22–6.
22. Brunstein, C.G., et al., Infusion of ex vivo expanded T regulatory cells in adults transplanted with umbilical cord blood: safety profile and detection kinetics. *Blood*, 2011. 117(3): p. 1061–70.
23. Marek-Trzonkowska, N., et al., Administration of CD4+CD25highCD127– regulatory T cells preserves beta-cell function in type 1 diabetes in children. *Diabetes Care*, 2012. 35(9): p. 1817–20.
24. Leslie, M., Regulatory T Cells Get Their Chance to Shine. *Science*, 2011. 332: p. 1020.
25. Shevach, E.M., Application of IL-2 therapy to target T regulatory cell function. *Trends Immunol*, 2012. 33(12): p. 626–32.
26. Rosenberg, S.A. and M.T. Lotze, Cancer immunotherapy using interleukin-2 and interleukin-2-activated lymphocytes. *Annu Rev Immunol*, 1986. 4: p. 681–709.
27. Liston, A. and D.H. Gray, Homeostatic control of regulatory T cell diversity. *Nat Rev Immunol*, 2014. 14(3): p. 154–65.
28. Saadoun, D., et al., Regulatory T-cell responses to low-dose interleukin-2 in HCV-induced vasculitis. *N Engl J Med*, 2011. 365(22): p. 2067–77.
29. Hartemann, A., et al., Low-dose interleukin 2 in patients with type 1 diabetes: a phase 1/2 randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2013. 1(4): p. 295–305.

30. Ozdemir, C., et al., Specific immunotherapy and turning off the T cell: how does it work? *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2011. 107(5): p. 381–92.
31. Gallimore, A. and S. Sakaguchi, Regulation of tumour immunity by CD25+ T cells. *Immunology*, 2002. 107(1): p. 5–9.
32. Golovina, T.N. and R.H. Vonderheide, Regulatory T cells: overcoming suppression of T-cell immunity. *Cancer J*, 2010. 16(4): p. 342–7.
33. Jacobs, J.F., et al., Dendritic cell vaccination in combination with anti-CD25 monoclonal antibody treatment: a phase I/II study in metastatic melanoma patients. *Clin Cancer Res*, 2010. 16(20): p. 5067–78.
34. Powell, D.J., Jr., et al., Administration of a CD25-directed immunotoxin, LMB-2, to patients with metastatic melanoma induces a selective partial reduction in regulatory T cells in vivo. *J Immunol*, 2007. 179(7): p. 4919–28.
35. Hodi, F.S., et al., Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*, 2010. 363(8): p. 711–23.
36. Beyersdorf, N., et al., Selective targeting of regulatory T cells with CD28 superagonists allows effective therapy of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med*, 2005. 202(3): p. 445–55.
37. Lin, C.H. and T. Hunig, Efficient expansion of regulatory T cells in vitro and in vivo with a CD28 superagonist. *Eur J Immunol*, 2003. 33(3): p. 626–38.
38. Suntharalingam, G., et al., Cytokine storm in a phase 1 trial of the anti-CD28 monoclonal antibody TGN1412. *N Engl J Med*, 2006. 355(10): p. 1018–28.
39. Boyman, O., et al., Selective stimulation of T cell subsets with antibody-cytokine immune complexes. *Science*, 2006. 311(5769): p. 1924–7.
40. Boyman, O. and J. Sprent, The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nat Rev Immunol*, 2012. 12(3): p. 180–90.
41. Lahl, K., et al., Selective depletion of Foxp3+ regulatory T cells induces a scurfy-like disease. *J Exp Med*, 2007. 204(1): p. 57–63.
42. Christiaansen, A.F., P.M. Boggiatto, and S.M. Varga, Limitations of Foxp3(+) Treg depletion following viral infection in DREG mice. *J Immunol Methods*, 2014. 406: p. 58–65.
43. Marek-Trzonkowska, N., et al., Clinical application of regulatory T cells in type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*, 2013. 14(5): p. 322–32.
44. Meignin, V., et al., Numbers of Foxp3-expressing CD4+CD25high T cells do not correlate with the establishment of long-term tolerance after allogeneic stem cell transplantation. *Exp Hematol*, 2005. 33(8): p. 894–900.
45. Sanchez, J., et al., Kinetic of regulatory CD25high and activated CD134+ (OX40) T lymphocytes during acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Br J Haematol*, 2004. 126(5): p. 697–703.
46. Clark, F.J., et al., Chronic graft-versus-host disease is associated with increased numbers of peripheral blood CD4+CD25high regulatory T cells. *Blood*, 2004. 103(6): p. 2410–6.
47. Zorn, E., et al., Reduced frequency of FOXP3+ CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 2005. 106(8): p. 2903–11.
48. Liu, B., et al., Abnormality of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol*, 2007. 78(2): p. 139–43.
49. Shi, J., et al., Intrinsic impairment of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in acquired aplastic anemia. *Blood*, 2012. 120(8): p. 1624–32.
50. Lee, H.Y., et al., Altered frequency and migration capacity of CD4+CD25+ regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*, 2008. 47(6): p. 789–94.
51. Zhang, B., et al., Clinical significance of increased CD4+CD25–Foxp3+ T cells in patients with new-onset systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*, 2008. 67(7): p. 1037–40.
52. Miyara, M., et al., Global natural regulatory T cell depletion in active systemic lupus erythematosus. *J Immunol*, 2005. 175(12): p. 8392–400.
53. Banica, L., et al., Quantification and molecular characterization of regulatory T cells in connective tissue diseases. *Autoimmunity*, 2009. 42(1): p. 41–9.
54. van Amelsfort, J.M., et al., CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in rheumatoid arthritis: differences in the presence, phenotype, and function between peripheral blood and synovial fluid. *Arthritis Rheum*, 2004. 50(9): p. 2775–85.
55. Venken, K., et al., Secondary progressive in contrast to relapsing-remitting multiple sclerosis patients show a normal CD4+CD25+ regulatory T-cell function and FOXP3 expression. *J Neurosci Res*, 2006. 83(8): p. 1432–46.
56. Putheti, P., et al., Circulating CD4+CD25+ T regulatory cells are not altered in multiple sclerosis and unaffected by disease-modulating drugs. *J Clin Immunol*, 2004. 24(2): p. 155–61.
57. Wang, Y., et al., Expression of CD4+ forkhead box P3 (FOXP3)+ regulatory T cells in inflammatory bowel disease. *J Dig Dis*, 2011. 12(4): p. 286–94.
58. Eastaff-Leung, N., et al., Foxp3+ regulatory T cells, Th17 effector cells, and cytokine environment in inflammatory bowel disease. *J Clin Immunol*, 2010. 30(1): p. 80–9.
59. Boyer, O., et al., CD4+CD25+ regulatory T-cell deficiency in patients with hepatitis C-mixed cryoglobulinemia vasculitis. *Blood*, 2004. 103(9): p. 3428–30.
60. Martelli, M.F., et al., HLA-haploidentical transplantation with regulatory and conventional T-cell adoptive immunotherapy prevents acute leukemia relapse. *Blood*, 2014. 124(4): p. 638–44.
61. Kennedy-Nasser, A.A., et al., Ultra low-dose IL-2 for GVHD prophylaxis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation mediates expansion of regulatory T cells without diminishing antiviral and antileukemic activity. *Clin Cancer Res*, 2014. 20(8): p. 2215–25.
62. Matsuoka, K., et al., Low-dose interleukin-2 therapy restores regulatory T cell homeostasis in patients with chronic graft-versus-host disease. *Sci Transl Med*, 2013. 5(179): p. 179ra43.
63. Koreth, J., et al., Interleukin-2 and regulatory T cells in graft-versus-host disease. *N Engl J Med*, 2011. 365(22): p. 2055–66.
64. Long, S.A., et al., Rapamycin/IL-2 combination therapy in patients with type 1 diabetes augments Tregs yet transiently impairs beta-cell function. *Diabetes*, 2012. 61(9): p. 2340–8.
65. Bohle, B., et al., Sublingual immunotherapy induces IL-10-producing T regulatory cells, allergen-specific T-cell tolerance, and immune deviation. *J Allergy Clin Immunol*, 2007. 120(3): p. 707–13.
66. Powell, D.J., Jr., et al., Partial reduction of human FOXP3+ CD4 T cells in vivo after CD25-directed recombinant immunotoxin administration. *J Immunother*, 2008. 31(2): p. 189–98.