

Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 8 (1986) 227–231

I. Univ.-Hautklinik (Vorstand: Prof. Dr. Klaus Wolff)
Institut für Spezifische Prophylaxe und Tropenmedizin der Universität Wien
(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. G. Wiedermann) (1)

Hinweise für mangelnde Gamma-Interferon-Aktivität in Hautläsionen von Patienten mit lepromatöser Lepra

Beatrix Volc-Platzer, H. Stemberger, G. Wiedermann

Einleitung

Die lepromatöse Lepra (LL) beruht auf einer spezifischen Reaktionsunfähigkeit von T-Lymphozyten gegen *Mycobacterium leprae* (M. l.). Im Gegensatz dazu ist die tuberkuloide Lepra (TT) durch eine starke zellmedierte Immunantwort gegen M. l. charakterisiert. Diese Unterschiede in der T-Lymphozyten-abhängigen Immunreaktivität kommen auch immunhistologisch zum Ausdruck: Gefrierschnitte von TT-Läsionen zeigen ein wohlorganisiertes lymphohistiozytäres Infiltrat mit zentral angeordneten T-Helfer/Induktor ($T_{H/I}$) Zellen umgeben von einem Wall von T-Suppressor/zytotoxischen ($T_{S/C}$) Zellen (Mantelformation) (1). Das spärliche T-Zell-Infiltrat in den LL-Läsionen hingegen ist ungeordnet und besteht vorwiegend aus $T_{S/C}$ (1). Den Makrophagen ($m\phi$) von Patienten mit LL fehlt die Fähigkeit, die intrazellulären Mikroorganismen durch den „oxidative burst“ zu eliminieren. Neuere Arbeiten haben gezeigt, daß es sich dabei nicht um einen Defekt der $m\phi$ per se handelt: Sharp und Banerjee fanden keinen Unterschied in der Peroxidproduktion durch $m\phi$ von Patienten mit TT und LL nach in-vitro Stimulation (2), weiters konnte bei in-vitro Versuchen beobachtet werden, daß in M. l.-enthaltenden $m\phi$ von Patienten mit LL durch Lymphozyten-Überstände von Patienten mit TT das Wachstum von M. l. gehemmt wurde (3). Es liegt daher nahe, daß die T-Lymphozyten von Patienten mit LL $m\phi$ -aktivierende Substanzen (gamma-Interferon [IFN- γ]) nicht in ausreichender Menge produzieren (4). Die mangelnde Aktivierung der T-Lymphozyten ist entweder durch einen Interleukin-2-(IL-2) Defekt (3) oder durch eine gestörte Expression des IL-2-Rezeptors (IL-2R) bedingt (5). In dieser Arbeit wird die intraläsionale IFN- γ -Aktivität bei TT und LL anhand der Expression von Klasse II-Antigenen an Keratinozyten (KZ) sowie am unterschiedlichen Gehalt und der unterschiedlichen Verteilung IL-2R tragender T-Lymphozyten gezeigt.

Material und Methodik

1. Patienten (siehe Tabelle 1)

20 Patienten, die in stationärer Behandlung im Bayara Hospital, Bauchi State, Nigeria, standen, wurden nach klinischen und bakteriologischen Kriterien entsprechend dem Ridley-Jopling Schema (6) eingeordnet. Aus typischen Läsionen wurden in Lokalanästhesie repräsentative Biopsien entnommen, unmittelbar nach der Entnahme in flüssigem Stickstoff eingefroren und bis zur weiteren Verarbeitung dort belassen.

2. Monoklonale Antikörper (mAK) (siehe Tabelle 2).

TABELLE 1:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<u>DIAGNOSE</u>																				
KLIN.	TT	TT	TT	TT	TT	LL	TT	BT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	LL	BL	BB	LL	LL	BB
HISTOL.	BT	BT	BT	BT	TT	LL	BB	BE	BT	BT	BT	BT	BT	TT	LL	BB	BL	BB	BT	BL
<u>THERAPIE</u>																				
VOR BIOPSIE	DDS	DDS	DDS	DDS	DDS	DDS	DDS	DDS	DDS	-	DDS	DDS	DDS	DDS	DDS	DDS	DDS	DDS	DDS	DDS
						RIF LA									RIF LA	CHLOR P	RIF LA			
<u>B.I.</u>	0	0	0	0	0	6+	N.B.	1-2+	N.B.	N.B.	0	0	0	1+	6+	N.B.	N.B.	4+	4+	N.B.
<u>IMMUN- HISTOL.</u>																				
T-ZELLEN																				
PAN-T	++	++	++	++	+++	+	+++	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	++	++	++	++
T _H /I	++	++	++	++	+++	+	+++	++	++	++	++	++	++	++	+	+++	++	++	++	++
T _S /Z	+	+	+	+	+	+	++	++	+	+	+	+	+	+++	++	++	+	++	+	++
IL-2R	+	+	+	+	++	+/-	++	+	+	+	++	+	+++	+	+++	+/-	+	+	+	+(+)
KLASSE II AG an KZ	-	-	-	-	++	-	+	+	-	-	+	+	-	++	-	-	-	-	-	-

++ reichlich
 ++ signifikant
 + spärlich
 DDS Dapsone
 RIF Rifampicin
 LA Lamprone
 CHLOR Chloroquine
 P Prednisolon
 N.B. nicht bestimmt

TABELLE 2: Monoklonale Antikörper

Antigen (AK)	Molekulargewicht	Zielzelle
CD 1 (OKT6)	45.000 15.000	kortikale Thymozyten, Langerhanszellen
CD 3 (Leu4)	55.000 19.000	Pan T-Zell Marker
CD 4 (Leu3a)	62.000	T-Helfer/Induktor Zellen
CD 8 (Leu2a)	33.000 32.000	T-Suppressor/zytotoxische Zellen
CD 25 (IL-2R)	120.000	aktivierte T, B Zellen, ?
HLA-DR	34.000 29.000	aktivierte T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen

3. 3-Stufen-Immunoperoxidase Technik

4 µm dicke Gefrierschnitte wurden luftgetrocknet. Die Fixierung erfolgte bei Raumtemperatur (RT) jeweils 10 min. in Aceton und Chloroform. Die Schnitte wurden mit den entsprechend in TRIS-1% Rinderserumalbumin (TRIS-BSA) verdünnten mAκ (Tab. 1) überschichtet und 45 Minuten in einer feuchten Kammer bei RT inkubiert.

Nach 3-maliger Waschung in TRIS-BSA-Puffer (pH 7,4) wurden die Schnitte 30 Minuten bei RT mit Peroxidase-markiertem Kaninchen-anti-Maus-Immunglobulin (Dakopatts, Kopenhagen, DK) inkubiert, welches 1:20 in hitze-inaktiviertem, humanem AB-Serum (Seromed, Biochrom AG, BRD) verdünnt worden war, in dem Glukose (Merck, Darmstadt, BRD) und Glukose-Oxidase (Sigma, St. Louis, MO) enthalten waren. Nach 3 weiteren Waschungen in TRIS-BSA-Puffer erfolgte die letzte Inkubation 30 Minuten mit einem Peroxidase-markierten Schwein-anti-Kaninchen-Immunglobulin (Dakopatts), welches ebenfalls 1:20 in 50% hitze-inaktiviertem AB-Serum verdünnt worden war. Die Farbreaktion wurde mit 3-amino-9-äthylcarbazole (Sigma, St. Louis, MO) und H_2O_2 entwickelt. Die Schnitte wurden mit Meyer's Hämalaun gefärbt und mit Kaisers Glyzerin-Gelatine eingedeckt.

Ergebnisse

Tuberkuloide Formen (TT, BT)

Ein T-Lymphozyten-reiches Infiltrat erstreckte sich bandförmig in der oberen Dermis und reichte bis an die dermo-epidermale Junktionszone heran. Innerhalb dieses Infiltrats war die Tendenz zur Formation von Granulomen erkennbar. Während im Zentrum der Granulome T-Zellen, die den Leu3a-Phänotyp exprimierten, überwogen, waren die anti-Leu2a⁺-T-Zellen vorwiegend in der Peripherie der Granulome erkennbar. Ebenfalls vorwiegend im Zentrum der Granulome waren IL-2R tragende Rundzellen erkennbar. In der darüberliegenden Epidermis fanden sich vorwiegend im *Stratum basale* und etwas darüber sowohl anti-Leu2a⁺, als auch anti-Leu3a⁺-T-Lymphozyten. Besonders auffallend war, daß die KZ ebenso wie die zahlreichen Infiltratzellen reichlich HLA-DR-Antigene an ihrer Oberfläche exprimierten.

Lepromatöse Formen (LL, BL, BB)

Unter einer zumeist zellarmen subepidermalen Zone fanden sich die vorwiegend aus Schaumzellen bestehenden typischen, lepromatösen Infiltrate: die Anzahl der T-Lymphozyten im Infiltrat war gering mit einem Überwiegen diffus verteilter T_{S/Z}-Phänotyp tragender Zellen. Nur vereinzelt waren IL-2R tragende Zellen erkennbar. Abgesehen von der für Makrophagen typischen cytoplasmatischen HLA-DR-Expression fanden sich nur wenige Lymphozyten, die eine starke Oberflächen-assoziierte anti-HLA-DR-Reaktivität erkennen ließen. In der darüberliegenden Epidermis waren die KZ durchwegs anti-HLA-DR negativ.

Diskussion

In Übereinstimmung mit anderen immunhistologischen Studien (1, 7) konnten wir zeigen, daß die Infiltrate bei den lepromatösen Formen durch spärlich, die der tuberkuloiden durch reichlich vorhandene T-Zellen charakterisiert sind. Der enge Kontakt zwischen T_{H1}-Zellen und Makrophagen, die deutliche Expression des IL-2R, sowie von HLA-DR-Antigenen an der Oberfläche von T-Lymphozyten können als immunhistologisches Substrat für den Aufbau einer guten Immunreaktivität bei tuberkuloiden Lepraformen gewertet werden. Im Gegensatz dazu unterstreicht das ungeordnete und spärliche, von T_{S/Z}-Lymphozyten dominierte Infiltrat die spezifische Anergie von Patienten mit LL. Die Immunantwort gegen M. L. ist T-Zell-mediert. Die spezifische Reaktionsunfähigkeit bei LL muß daher im Bereich des T-Zell-Aktivierungsprozesses gesucht werden. Einerseits postulieren NATH et al. (8) einen IL-2-hemmenden, löslichen, von

adhärenten PBMC-produzierten Faktor, andererseits wurden T-Suppressorzellen für die Anergie verantwortlich gemacht (9). Es ist bekannt, daß IFN- γ neben Aktivierung des oxidativen Metabolismus von $m\phi$ (10) und der Expression von Fc-Rezeptoren (11) zu einer Expression von Klasse II-Alloantigenen durch eine Reihe normalerweise nur Klasse I-Antigene exprimierender Zellen führt (12, 13).

Das Fehlen von HLA-DR-Antigenen an Keratinozyten bzw. die äußerst geringe Zahl anti-HLA-DR reaktiver Lymphozyten im LL-Infiltrat unterstreichen den Mangel an IFN- γ -Aktivität in den LL-Läsionen. NOGUEIRA et al. (3) konnten auch an PBMC von Patienten mit LL zeigen, daß durch M. I. eine IFN- γ -Produktion nicht zu stimulieren war. IL-2 konnte diesen Defekt aufheben. Auch in situ wurden signifikant weniger anti-IL-2⁺-Zellen in LL-Läsionen nachgewiesen (14). Im Gegensatz dazu liegt nach Beschreibungen von MOHAGHEGPOUR et al. (4) der Immundefekt eher bei einem Mangel an IL-2R-tragenden Zellen als bei einer fehlenden IL-2-Produktion per se. Diese an peripheren Lymphozyten gewonnenen Ergebnissen können wir aufgrund der geringeren Anzahl an anti-IL-2R⁺-Zellen in LL-Infiltraten bestätigen.

Zusammenfassung

In Biopsien von 20 Leprapatienten mit unterschiedlicher Position im Ridley-Jopling-Schema wurden einerseits die Verteilung von T-Zell-Subpopulationen, andererseits der Aktivierungsmarker (HLA-DR-Antigene, Interleukin-2-Rezeptor) untersucht. Die fehlende Expression von HLA-DR-Antigenen durch Keratinozyten sowie die nur vereinzelt vorhandenen Interleukin-2-Rezeptor-tragenden Zellen weisen auf eine mangelnde intraläsionale Gamma-Interferon-Aktivität bei multibazillären Formen hin.

Summary

Defective intralesional interferon-gamma activity in patients with lepromatous leprosy.

Distribution of T-cell subpopulations as well as of activation markers (HLA-DR antigens, interleukin-2-receptor) were investigated in biopsies obtained from 20 patients throughout the leprosy spectrum (Ridley-Jopling-Scheme). The absence of HLA-DR antigens on keratinocytes as well as the sparsely distributed interleukin-2-receptor bearing cells indicate defective intralesional interferon-gamma-activities in patients with lepromatous leprosy.

Literatur

1. VAN VORHEES, W. C., KAPLAN, G., SARNO, E. N., HORWITZ, M. A., STEINMANN, R. M., LEVIS, W. R., NOGUEIRA, N., HAIR, L. S., GATTASS, C. R., ARRICK, B. A., COHN, Z. A. (1982): The cutaneous infiltrates of leprosy. Cellular characteristics and the predominant T-cell phenotypes. *N. Engl. J. Med.* 307, 1593.
2. SHARP, A. K., BANERJEE, D. K. (1985): Hydrogen peroxide and superoxide production by peripheral blood monocytes in leprosy. *Clin. Exp. Immunol.* 60, 203.
3. HARGEWOIN, A., GODAL, T., MUSTAFA, A. S., BELEHU, A., JEMANEBERHAN, T. (1983): T-cell conditioned media reverse T-cell unresponsiveness in lepromatous leprosy. *Nature* 303, 342.
4. NOGUEIRA, N., KAPLAN, G., LEVY, E., SARNO, E. N., GARNELLI-PIPERNO, A., VIVEIRA, L., COLOMER GOULD, V., LEVIS, W. R., STEINMANN, R. M., KIP, Y. K., COHN, Z. A. (1983): Defective interferon production in leprosy: reversal with antigen and interleukin 2. *J. Exp. Med.* 158, 2165.

5. MOHAGHEGHPUR, N. GELBER, R. H., LARRICK, J. W., SASAKI, D. T., BRENNAN, P. J., ENGLEMAN, E. G. (1985): Defective cell-mediated immunity in leprosy: failure of T-cells from lepromatous leprosy patients to respond to mycobacterium leprae is associated with defective expression of interleukin 2 receptors and is not reconstituted by interleukin 2. *J. Immunol.* 135, 1443.
6. RIDLEY, D. S., JOPLING, W. H. (1966): Classification of leprosy according to immunity: a five-group system. *Int. J. Leprosy* 34, 255.
7. MODLIN, R. L., HOFMAN, F. M., TAYLOR, C. R., REA, Th. (1983): T-lymphocyte subsets in the skin lesions of patients with leprosy. *J. Am. Acad. Dermatol.* 8, 182.
8. NATH, I., JAYARAMAN, J., SATHISH, M., BHUTANI, L. K., SHARMA, A. K. (1984): Inhibition of interleukin-2 production by adherent cell factors from lepromatous leprosy patients. *Clin. Exp. Immunol.* 58, 531.
9. MEHRA, V., BRENNAN, P. J., RADA, E., CONVIT, J., BLOOM, B. R. (1984): Lymphocyte suppression in leprosy induced by unique *M. leprae* glycolipid. *Nature* 308, 194.
10. NATHAN, C. F., MURRAY, H. W., WIEBE, M. E., RUBIN, B. Y. (1983): Identification of interferon- γ as the lymphokine which activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. *J. Exp. Med.* 185, 670.
11. PERUSSIA, B., DAYTON, E. T., LAZARUS, R., FANNING, V., TRINCHIERI, G. (1983): Immune interferon induces th receptor for monomeric IgG 1 on human monocytic and myeloid cells. *J. Exp. Med.* 158, 1092.
12. HOUGHTON, A. N., THOMSON, T. M., GROSS, D., OETTGEN, H. F., OLD, L. J. (1984): Surface antigens of melanoma and melanocytes. Specificity of induction of Ia antigens by human γ -interferon. *J. Exp. Med.* 160, 255.
13. VOLC-PLATZER, B., STINGL, G.: HLA-DR antigen synthesis and expression by human keratinocytes. In: *Experimental and Clinical Photoimmunology*, Ed: Daynes R. CRC PRESS 1986.
14. MODLIN, R. L., HOFMANN, F. M., HORWITZ, D. A., HUSMANN, L. A., GILLIS, S., TAYLOR, C. R., REA, Th. (1984): *In situ identification of cells in human leprosy granulomas with monoclonal antibodies to interleukin 2 and its receptors.* *J. Immunol.* 132, 3085.

KORRESPONDENZADRESSE

Dr. Beatrix Volc-Platzer
I. Universitäts-Hautklinik
Alserstraße 4
A-1090 Wien

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen der Österreichischen Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie](#)

Jahr/Year: 1986

Band/Volume: [8](#)

Autor(en)/Author(s): Volc-Platzer Beatrix, Stemberger Heinrich,
Wiedermann Gerhard

Artikel/Article: [Hinweise für mangelnde Gamma-Interferon-Aktivität in Hautläsionen von Patienten mit lepromatöser Lepra. 227-231](#)