

Die physiologische und pathophysiologische Bedeutung des programmierten Zelltodes¹

Hans-Uwe Simon, Davos

Zusammenfassung

Wir haben in den letzten Jahren sehr viel über die Kontrolle und die Mechanismen des programmierten Zelltodes (PZT) gelernt. Trotzdem gibt es noch grosse Lücken in unserem Verständnis. Es sollte jedoch durch die Verfügbarkeit verschiedener Gene, die während des PZT eine grosse Rolle spielen, möglich sein, weitere wichtige Proteine in diesem Prozess zu identifizieren. Ziel ist es auch, neben den intrazellulären Mechanismen des PZT, in Zukunft die Überlebensfaktoren sowie deren spezifische Rezeptoren für jede einzelne Zelle zu definieren. Neben der wissenschaftlichen Grundlagenforschung ist es notwendig, die Rolle und Regulation des PZT bei Erkrankungen des Menschen zu studieren. Die Bedeutung dieser klinischen Forschung liegt nicht nur in einem besseren pathophysiologischen Verständnis, sondern vor allem auch in der Entwicklung von Therapeutika, die den fehlgesteuerten PZT korrigieren. Diese Übersicht soll eine Einführung zur physiologischen und pathophysiologischen Rolle des PZT beim Menschen geben.

The physiological and pathophysiological impact of programmed cell death

During the past few years, some progress has been made in understanding the control and mechanisms of programmed cell death (PCD). Nevertheless, major aspects remain undefined. However, due to the availability of several important genes which play a role in the regulation of apoptosis, it should be possible to identify further proteins involved in this process. In addition to defining the molecular mechanisms of PCD, one should define the survival factors and the receptors for these factors for every cell type. Besides basic research, it is important to study the role and regulation of PCD in disease. Such clinical research will not only lead to more pathophysiological insights into diseases, but may also facilitate the design of new drugs to normalize dysregulated PCD. This review gives an introduction into our current understanding of both the physiological and pathophysiological role of PCD in humans.

1 EINLEITUNG

Der Zelltod einer eukaryotischen Zelle kann auf zwei unterschiedlichen Wegen erfolgen. Es ist zunächst klar, dass eine Zelle infolge einer schweren Schädigung stirbt. Ein solcher, eher zufälliger Zelltod tritt zum Beispiel ein, wenn die Zelle plötzlich nicht mehr mit Blut versorgt wird (Infarkte) oder wenn sie bestimmten Giften (Vergiftungen) bzw. zu hohen Temperaturen (Verbrennungen) ausgesetzt ist. Dieser Zelltod wird als Nekrose bezeichnet. Der Prozess der Nekrose ist dadurch charakterisiert, dass es zu einem sehr frühen Verlust der Integrität der Zellmembran kommt. Dadurch werden Zellinhaltsstoffe freigesetzt, die zu einer entzündlichen Reaktion führen. Es ist damit sehr unwahrscheinlich, dass die Nekrose den physiologischen Zelltod innerhalb eines multizellulären Organismus darstellt.

Obwohl man den Tod als Gegensatz zum Leben ansehen könnte, so ist er doch, zumindest aus biologischer Sicht, auch ein unabdingbarer Begleiter des Lebens. Diese allgemeingültige Aussage gilt sowohl innerhalb einer bestimmten Art oder auch innerhalb eines multizellulären Lebewesens. Zum Beispiel ist die Lebenszeit eines Individuums genetisch begrenzt, womit eine ständige Erneuerung der Generation erreicht wird. Und auf der Ebene eines einzelnen Organismus ist es zur Aufrechterhaltung des Individuums ebenso notwendig, dass permanent somatische Zellen absterben. Dieser physiologische Zelltod erfolgt in einer kontrollierten Art und Weise und scheint einem definierten Programm zu folgen (GERSCHENSON & ROTELLO, 1992; COHEN, 1993). Diese Form des Zelltodes wird häufig auch als «programmierter

¹ Nach der Antrittsvorlesung vom 19. November 1996 als Privatdozent an der Medizinischen Fakultät der Universität Zürich.

Zelltod» (PZT) bezeichnet, da bisherige Erkenntnisse darauf hinweisen, dass die Zelle ein intrazelluläres Programm aktiviert und damit selbst an ihrem Tod beteiligt ist.

2 DEFINITION

Morphologische Merkmale: Der PZT erfolgt im Gegensatz zur Nekrose ohne erkennbare Entzündungsreaktion im Gewebe und ohne Lyse der sterbenden Zelle. Dafür beobachtet man beim PZT Veränderungen des Zellkerns. Zunächst wird der Zellkern kompakter, später zerbricht er dann in viele kleine Fragmente. Weiterhin ist der PZT durch eine Kondensation des Zytoplasmas charakterisiert. Damit ist eine Reduktion des Zellvolumens verbunden. Die Zelle zerfällt schliesslich in kleinere Bestandteile, die aber stets mit einer intakten Zellmembran ausgestattet sind (= apoptotische Körper). Phagozyten sind für die Abräumung der apoptotischen Körper zuständig (Abb. 1).

Biochemische Merkmale: Das bisher am besten definierte Merkmal des PZT betrifft die im Zellkern befindliche DNA. Gemeinsam mit den morphologischen Veränderungen beobachtet man in vielen Fällen eine spezielle Form der DNA-Fragmentierung, die man als «DNA-Leiter» im Agarose-Gel sichtbar machen kann (Abb. 2). Der Begriff «Apoptose» steht für jene Formen des PZT, bei denen die DNA-Fragmentierung entsprechend dem «Leiter»-Typ erfolgt. Es gibt jedoch andere Formen des PZT, bei denen keine «Leiter»-Formation erkennbar ist. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass der

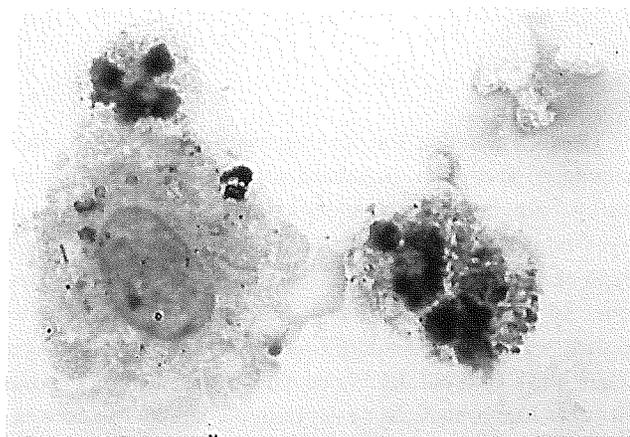


Abb. 1. Die Abräumung von neutrophilen Granulozyten durch Makrophagen. Dargestellt sind Zellen aus einer bronchoalveolären Lavage-Flüssigkeit von einem Patienten mit neutrophiler Entzündung. Die Neutrophilen wurden spezifisch angefärbt. Apoptotische Neutrophile werden durch die Expression spezieller Oberflächenstrukturen von Alveolarmakrophagen erkannt und dann gefressen. Dadurch werden neutrophilen-spezifische Proteine im Zytoplasma der Makrophagen sichtbar.

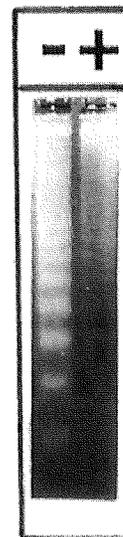


Abb. 2. Doppelstrang-DNA-Brüche erfolgen in den meisten durch PZT sterbenden Zellen zwischen den Nukleosomen. Dadurch entsteht im Agarose-Gel eine sogenannte «DNA-Leiter». Die extrahierte DNA stammt von Eosinophilen, die zuvor ohne (-) und mit IL-5 (+) in vitro kultiviert wurden.

PZT auch in Zellen stattfindet, die keinen Zellkern besitzen (JACOBSON et al., 1994; SCHULZE-OSTHOFF et al., 1994). Genau genommen ist es deshalb nicht richtig, die Begriffe Apoptose und PZT synonym zu verwenden. Wir sprechen deshalb in dieser Übersicht allgemein von PZT.

3 BIOLOGISCHE BEDEUTUNG

Eine grosse Bedeutung besitzt der PZT während der Entwicklung eines Embryos, bei der Subpopulationen von Zellen in komplexen Organen selektiv sterben müssen. Zum Beispiel sterben viele Neurone während der Entwicklung des Gehirns. Weiterhin werden T-Zellen, die körpereigene Strukturen erkennen, im Thymus durch PZT eliminiert.

Aber auch im erwachsenen Organismus kann der PZT permanent beobachtet werden. Täglich werden grosse Mengen an Granulozyten aus dem Knochenmark ausgeschwemmt. Praktisch die gleiche Granulozyten-Zahl muss durch PZT sterben. Damit wird zum einen die zelluläre Homöostase aufrecht erhalten, und zum anderen wird verhindert, dass die insbesondere in den Granulozyten vorhandenen gefährlichen Zellinhaltsstoffe freigesetzt werden. Ein weiteres Beispiel ist das Immunsystem. Nach Antigenkontakt kommt es zu einer temporären Expansion von spezifischen T-Lymphozyten. Nach erfolgter Immunantwort wird diese Expansion spezifischer Zellen rückgängig gemacht: Die T-

Zellen sterben durch PZT. Dem Leser sollte an dieser Stelle bewusst sein, dass die gerade besprochene Liste an Beispielen unvollständig ist. Pathophysiologisch gesehen kann ein erhöhter PZT praktisch bei jeder Form von Atrophie beobachtet werden. Die Rolle von dysreguliertem PZT bei der Entstehung von Erkrankungen besprechen wir gesondert.

4 AKTIVE UND PASSIVE AUSLÖSUNG

Der PZT kann über bestimmte Oberflächenrezeptoren durch para- oder autokrine membranständige Moleküle oder lösliche Faktoren aktiv induziert werden. Bekannte und gut untersuchte Beispiele dafür sind die Interaktionen zwischen den Mitgliedern der Tumor-Nekrose-Faktor- und der TNF-Rezeptor-Familien. So tragen die meisten Zellen ein Oberflächenmolekül, welches Fas-Rezeptor genannt wird. Die Aktivierung des Fas-Rezeptors erfolgt durch «cross-linking» und führt zur Induktion von Zelltod in den meisten, aber nicht allen Fällen. Molekulare Fas-Ligand/Fas-Rezeptor-Interaktionen haben eine grosse Bedeutung bei der Regulation der Immunantwort (KRAMMER et al., 1994; SIMON et al., 1996; HEBESTREIT et al., 1996). Wir hatten ja bereits besprochen, dass der PZT von aktivierten T-Zellen notwendig ist, um nach erfolgter Immunantwort die Zahl antigen-spezifischer T-Zellen auf diejenige vor der Immunantwort zu reduzieren (zelluläre Homöostase).

Einige Verwirrung hatte die Beobachtung gestiftet, dass der PZT auch ohne einen direkten Stimulus ausgelöst werden kann. Viele Zellen sind von der Stimulation mit Wachstumsfaktoren abhängig. Sobald aber der Stimulus zum Weiterleben der Zelle entfällt, stirbt sie durch PZT (RAFF, 1992). Das heisst also, der PZT wird automatisch eingeleitet, wenn der Zelle nicht das Gegenteil befohlen wird. Dieser «passive» PZT ist im Gegensatz zum aktiv induzierten nicht von der Expression neuer Gene abhängig.

5 INTRAZELLULÄRE REGULATION

5.1 Aktivatoren

Verschiedene intrazelluläre Signalübertragungswege wurden mit der Einleitung des PZT in Verbindung gebracht (YOUSEFI et al., 1994 und 1996). Die Aktivierung eines Signalübertragungsweges kann jedoch unterschiedliche funktionelle Konsequenzen haben. Die funktionelle Umsetzung eines Signals ist sowohl vom Zelltyp, vom Differenzierungszustand als auch von anderen Signalen, die die Zelle gleichzeitig erhält, abhängig. Zum Beispiel interpretiert die T-Zelle das Signal über den Antigen-Rezeptor in Abhängigkeit vom Entwick-

lungsstadium oder dem bereits vorhandenen Aktivierungszustand unterschiedlich: In Thymozyten führt die Aktivierung des T-Zell-Rezeptors zum PZT oder zur sogenannten Positiv-Selektion (SMITH et al., 1989). In reifen T-Zellen führt das gleiche Signal zu Differenzierung und Proliferation (MEUER et al., 1983). Sind die T-Zellen jedoch aktiviert, kann das gleiche Signal auch zum PZT der T-Zellen führen (WESSELBORG et al., 1993).

Für die Einleitung des PZT ist, in Abhängigkeit des zellulären Systems, die Expression bestimmter Proteine notwendig. Der Tumor-Suppressor p53 und das Proto-Onkoprotein c-myc sind uns gut bekannte Moleküle, die die Zellproliferation regulieren. Beide Proteine haben jedoch auch dramatische Effekte auf den PZT in einigen Zellen. So verhindert eine reduzierte Expression von c-myc den über den Antigen-Rezeptor vermittelten PZT in T-Zellen (SHI et al., 1992); c-myc kann also sowohl Proliferation als auch PZT induzieren. Das Vorhandensein von Wachstumsfaktoren und/oder die Expression weiterer Gene bestimmen dann die Entscheidung der Zelle (Abb. 3).

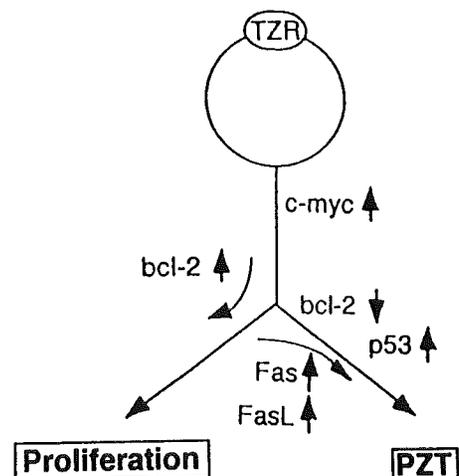


Abb. 3. Die genetische Kontrolle des PZT in T-Zellen. Die Aktivierung des T-Zell-Rezeptors (TZR) kann sowohl zu Proliferation als auch zu PZT führen.

5.2 Inhibitoren

Die Hemmung des PZT durch das Proto-Onkogen bcl-2 ist ein überzeugender Beweis dafür, dass der PZT tatsächlich genetisch kontrolliert wird (KORSMEYER, 1992). Zwischenzeitlich wurden verschiedene Gene mit bcl-2-ähnlichen Sequenzen isoliert, einige davon hemmen ebenso wie bcl-2 den PZT (CORY, 1995). Neben der bcl-2 Genfamilie wurde kürzlich eine weitere Familie (IAP-Familie) entdeckt, die den PZT reguliert (LISTON et al., 1996; UREN et al., 1996). Die

bisher charakterisierten Moleküle aus dieser Familie sind ausnahmslos Hemmer des PZT.

6 PATHOPHYSIOLOGISCHE UND KLINISCHE BEDEUTUNG

6.1 Pathologische Hemmung

Die Regulation des PZT kann gestört sein und dann Krankheiten verursachen (Abb. 4). Zum Beispiel kann ein Defekt des PZT zur unerwünschten Akkumulation von Zellen führen. Krebskrankheiten, chronische Entzündungen einschliesslich Autoimmunerkrankungen und Allergien, sowie bestimmte virale Erkrankungen sind mit Störungen des PZT verknüpft, wobei die molekularen Mechanismen sehr unterschiedlich sind (CARSON et al., 1993; SIMON & BLASER, 1995).

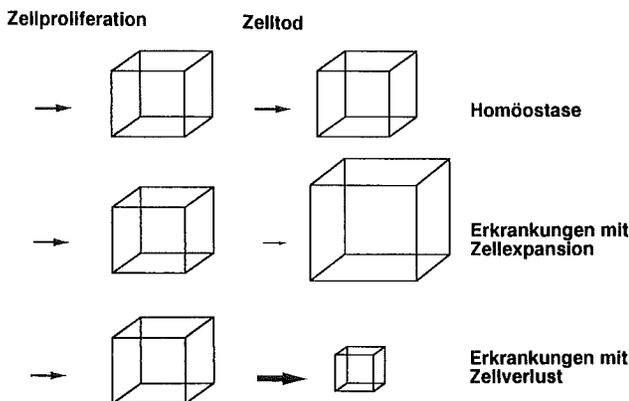


Abb. 4. Der Effekt des Ausmasses an Zelltod auf die zelluläre Homöostase. Die Zellzahlen werden durch den Nettoeffekt aus Zellproliferation und Zelltod kontrolliert. Bei konstanter Zellproliferation entscheidet das Ausmass des Zelltodes über das Einhalten der zellulären Homöostase bzw. über eine Akkumulation oder einen Verlust von Zellen.

6.2 Pathologische Steigerung

AIDS, neurodegenerative Erkrankungen, myelodysplastische Syndrome und andere haematopoietische Erkrankungen (z. B. aplastische Anämie, chronische Neutropenie) sind durch den gesteigerten PZT einer bestimmten Zellpopulation charakterisiert. Das sicherlich am meisten untersuchte Modell ist der Verlust von CD4⁺ T-Helferzellen bei AIDS. Allgemein kann jedoch festgestellt werden, dass bei all diesen Erkrankungen die Sensitivität zur Einleitung des PZT in den abnormalen Zellen erhöht ist. Diese veränderte Sensitivitätslage kann Ausdruck einer genetischen Prädisposition, aber auch eine erworbene Störung sein.

7 DANK

Die Forschung im Labor des Autors wird durch den Schweizerischen Nationalfonds (Gesuch-Nr. 32-49210.96), die Saurer-Stiftung (Zürich), die OPO-Stiftung (Zürich) sowie die Stiftung für wissenschaftliche Forschung an der Universität Zürich unterstützt.

8 LITERATUR

- CARSON, D.A. & RIBEIRO, J.M. 1993. Apoptosis and disease. – *Lancet* 341, 1251–1254.
- COHEN, J.J. 1993. Apoptosis. – *Immunol. Today* 14, 126–130.
- CORY, S. 1995. Regulation of lymphocyte survival by the Bcl-2 gene family. – *Annu. Rev. Immunol.* 13, 513–543.
- GERSCHENSON, L.E. & ROTELLO, R.J. 1992. Apoptosis: a different type of cell death. – *FASEB J.* 6, 2450–2455.
- HEBESTREIT, H., YOUSEFI, S., BALATTI, I., WEBER, M., CRAMERI, R., SIMON, D., HARTUNG, K., SCHAPOWAL, A., BLASER, K. & SIMON, H.-U. 1996. Expression and function of the Fas receptor on human blood and tissue eosinophils. – *Eur. J. Immunol.* 26, 1775–1780.
- JACOBSON, M.D., BURNE, J.F. & RAFF, M.C. 1994. Programmed cell death and Bcl-2 protection in the absence of a nucleus. – *EMBO J.* 13, 1899–1910.
- KORSMEYER, S.J. 1992. Bcl-2: a repressor of lymphocyte death. – *Immunol. Today* 13, 285–288.
- KRAMMER, P.H., BEHRMANN, I., DANIEL, P., DHEIN, J. & DEBATIN, K.-M. 1994. Regulation of apoptosis in the immune system. – *Curr. Opin. Immunol.* 6, 279–289.
- LISTON, P., ROY, N., TAMAI, K., LEFEBVRE, C., BAIRD, S., CHERTON-HORVAT, G., FARAHANI, R., MCLEAN, M., IKEDA, J.-E., MAC KENZIE, A. & KORNELUK, R.G. 1996. Suppression of apoptosis in mammalian cells by NAIP and a related family of IAP genes. – *Nature* 379, 349–353.
- MEUER, S.C., HODGDON, J.C., HUSSEY, R.E., PROTENTIS, J.P., SCHLOSSMAN, S.F. & REINHERZ, E.L. 1983. Antigen-like effects of monoclonal antibodies directed at receptors on human T cell clones. – *J. Exp. Med.* 158, 988–993. RAFF, M.C. 1992. Social controls on cell survival and cell death. – *Nature* 356, 397–400.
- SCHULZE-OSTHOFF, K., WALCZAK, H., DROGE, W. & KRAMMER, P.H. 1994. Cell nucleus and DNA fragmentation are not required for apoptosis. – *J. Cell Biol.* 127, 15–20.
- SHI, Y., BISSONNETTE, R.P., GLYNN, J.M., GUILBERT, L.J., COTTER, T.G. & GREEN, D.R. 1992. Role for c-myc in activation-induced apoptotic cell death in T cell hybridomas. – *Science* 257, 212–214.
- SIMON, H.-U. & BLASER, K. 1995. Inhibition of programmed eosinophil death: a key pathogenic event for eosinophilia? – *Immunol. Today* 16, 53–55.
- SIMON, H.-U., YOUSEFI, S., DOMMANN-SCHERRER, C.C., ZIMMERMANN, D.R., BAUER, S., BARANDUN, J. & BLASER, K. 1996. Expansion of cytokine-producing CD4-CD8- T cells associated with ab-

normal Fas expression and hypereosinophilia. – *J. Exp. Med.* *183*, 1071–1082.

SMITH, C.A., WILLIAMS, G.T., KINGSTON, R., JENKINSON, R.J. & OWEN, J.J.T. 1989. Antibodies to CD3/T cell receptor complex induce apoptosis in immature T cells in thymic cultures. – *Nature* *337*, 181–184.

UREN, A.G., PAKUSCH, M., HAWKINS, C.J., PULS, K.L. & VAUX, D.L. 1996. Cloning and expression of apoptosis inhibitory protein homologs that function to inhibit apoptosis and/or bind tumor necrosis factor receptor-associated factors. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* *93*, 4974–4978.

WESSELBORG, S., JANSSEN, O. & KABELITZ, D. 1993. Induction of activation-driven death (apoptosis) in activated but not resting peripheral blood T cells. – *J. Immunol.* *150*, 4338–4345.

YOUSEFI, S., GREEN, D.R., BLASER, K. & SIMON, H.-U. 1994. Protein-tyrosine phosphorylation regulates apoptosis in human eosinophils and neutrophils. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* *91*, 10868–10872.

YOUSEFI, S., HOESSLI, D.C., BLASER, K., MILLS, G.B. & SIMON, H.-U. 1996. Requirement of Lyn and Syk tyrosine kinases for the prevention of apoptosis by cytokines in human eosinophils. – *J. Exp. Med.* *183*, 1407–1414.

Priv.-Doz. Dr. med. Hans-Uwe Simon, Schweizerisches Institut für Allergie- und Asthmaforschung (SIAF), Universität Zürich, Obere Strasse 22, CH-7270 Davos