

stofsungsreaktion erkennbar sind, könnte auch für die immunologische Überwachung nach klinischer Lebertransplantation bedeutsam sein: Möglicherweise könnte aus Leberbiopsien von Transplantatempfängern mit Hilfe immunhistochemischer Untersuchungen ein Markersystem entwickelt werden, das bei der Beurteilung des immunologischen Aktivierungsstatus des Empfängers wertvolle Hinweise geben könnte. Darüber hinaus ließen sich alternative therapeutische Verfahren zur Verhinderung einer akuten Organabstoßung entwickeln: In Erkenntnis der Kinetik der Expression der Klasse II-Antigene könnte möglicherweise der optimale Zeitpunkt für die Gabe von gegen Klasse II-Antigenen gerichteten Antikörpern besser bestimmt werden.

Literatur

1. Frelinger, J. A.: Tissue distribution and cellular expression of Ia antigens. In: Ferrone, David: Ia antigens: I. Mice. Boca Raton: CRC Press, 37-65 (1983).
2. Steiniger, B., Klempnauer, J., Wonigeit, K.: Phenotype and histological distribution of interstitial dendritic cells in the rat pancreas, liver, heart and kidney. *Transplantation* 38, 169-175 (1984).
3. Suijters, A. J., Lampert, I. A.: Class II antigen induction in the liver of rats with graft-versus-host disease. *Transplantation* 38, 194-196 (1984).
4. Dallmann, M. J., Mason, D. W., Webb, M.: The roles of host and donor cells in the rejection of skin allografts by T cell-deprived rats injected with syngeneic T cells. *Eur. J. Immunol.* 12, 511-518 (1982).

Anschrift des Verfassers: R. Engemann, Chirurgische Universitätsklinik Kiel, Hospitalstraße 40, D - 2300 Kiel (BRD)

Chirurgische Universitätsklinik Kiel

Suppressorzellmechanismen nach Cyclosporin A (CsA) induzierter Toleranz allogener Rattenlebertransplantate

Von R. ENGEMANN, H.-J. GASSEL, K. ULRICHS, A. THIEDE und H. HAMELMANN

In bestimmten Spender-Empfängerkombinationen werden Herz- (1, 2), Nieren- und Lebertransplantate (3) nach kurzfristiger Gabe des Immunsuppressivums CsA langfristig angenommen. Unter anderen Mechanismen werden die selektive Aussparung von T-Suppressorzellen (Ts) bei der Immunsuppression mit CsA diskutiert. Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Charakterisierung der der Toleranz zugrunde liegenden Mechanismen durch in vivo und in vitro Untersuchungen zu einem frühen Zeitpunkt (20-40 Tage) nach OP und einem späten Zeitpunkt (Tag 100).

Material und Methoden

Die orthotope Rattenlebertransplantation (ORLT) wurde mit mikrochirurgischen Methoden mit Wiederanschluß der Arteria hepatica in der voll allogenen DA (RT1^{av1}) → LEW (RT1¹) Kombination durchgeführt. Dabei erhielten die Empfänger vom 1.-14. p. op. Tag 10 mg/kg Körpergewicht CsA über eine Magensonde. Zu einem frühen sowie zu einem späten Zeitpunkt wurde spenderspezifische sowie Drittstammhaut transplantiert, um die Spezifität der Toleranz zu überprüfen. Zum in vitro-Nachweis der zellvermittelten Zytotoxizität diente der 48 h Mikrozytotoxizitätstest (MCA nach Takasugi und Klein). In der gemischten Lymphozytenreaktion (MLR) wurde die Restimulierbarkeit von Empfängermilzzellen, im Suppressoransatz der MLR wurde die Fähigkeit von 1×10^5 Mitomycin C blockierten Empfängermilzzellen untersucht, die gleiche Zahl

normaler LEW-Zellen in ihrem Proliferationsvermögen gegen Spender- sowie Drittstammantigen zu unterdrücken. In vivo erfolgte die Überprüfung der verminderten immunologischen Reaktivität mit Hilfe der adoptiven Zellübertragung. Dabei erhielten mit 850 rad bestrahlte LEW-Ratten 5×10^7 Milzzellen von langzeitüberlebenden Lebertransplantatempfängern sowie spenderspezifische und Drittstammhauttransplantate. Als Antikörpersuchtest wurde der indirekte Immunfluoreszenztest benutzt, als Zielzellen dienten Concanavalin A stimulierte Thymozyten vom Spendertyp und Drittstamm. Signifikanzberechnungen erfolgten mit dem Wilcoxon U-Test.

Ergebnisse

Nach kurzfristiger Cyclosporin A-Gabe überlebten 75 % der Tiere länger als 100 Tage. In der Frühphase nach der Transplantation wurde sowohl spenderspezifische (DA) als auch Drittstammhaut (F 344), verglichen mit CsA-behandelten, nicht lebertransplantierten LEW-Empfängern, hochsignifikant verzögert abgestoßen (DA: $17,0 \pm 1,4$ Tage gegenüber $8,5 \pm 0,5$ Tage bei Kontrolle, F 344: $19,0 \pm 1,4$ Tage gegenüber $11,0 \pm 0,8$ Tage). In der Spätphase wurden spenderspezifische Hauttransplantate langfristig akzeptiert (DA: länger als 50 Tage), wohingegen Drittstammhaut wie in der Frühphase verzögert abgestoßen wurde ($20,0 \pm 2,3$ Tage). In der MLR mit Milzlymphozyten der lebertoleranten Tiere zeigte sich in der Frühphase eine verminderte Restimulierbarkeit bei 4 von 7 Tieren (55 %), in der Spätphase war die Restimulierbarkeit nur bei einem von 5 Tieren vermindert. Während in der Frühphase bei 8 von 8 Tieren, dabei zweimal spezifisch gegen das Spenderantigen DA gerichtet, Suppression gefunden werden konnte, zeigte sich in der Spätphase nur bei einem von 5 Tieren eine unspezifische Suppression. Im MCA zeigten Milzzellen in der Frühphase bei 8 von 13 Tieren (61 %), in der Spätphase bei 7 von 9 Tieren (77 %) spenderspezifische, zellvermittelte Zytotoxizität. Nach adoptiver Zellübertragung wurden DA Hauttransplantate auf mit 850 rad bestrahlten LEW-Ratten durchschnittlich am Tag 13,5 abgestoßen (Kontrolle: 9,0 Tage). Dieser Effekt ist spezifisch, BN-Haut wurde wie bei den Kontrollen am 9. Tag abgestoßen. Damit kann der adoptiv transplantierten Milz Zellpopulation eine suppressive Wirkung zugeschrieben werden. Im Immunfluoreszenztest konnten bei mit CsA behandelten Tieren keine Antikörper nachgewiesen werden, bei den unbehandelten Kontrollen waren am 10. Tag, also während der Transplantatabstoßung, Antikörper gegen RT1A^a und RT6 (nicht MHC) nachweisbar.

Diskussion

Die von uns nach ORLT und temporärer CsA-Gabe nachgewiesenen zellvermittelten Suppressionsmechanismen scheinen eine wesentliche Rolle bei der Induktion und der Erhaltung der Toleranz zu spielen. Dabei entwickelt sich die Toleranz über eine instabile und unspezifische Frühphase in eine späte stabile Phase, wie das Verhalten der Hauttransplantate zeigt. Auch in der Spätphase werden Drittstammhauttransplantate als Ausdruck einer noch gering vorhandenen unspezifischen Immunsuppression verzögert abgestoßen. Die Entwicklung der Transplantattoleranz über eine unspezifische frühe in eine spezifische späte Phase wurde auch von Nagao et al. (1) nach Rattenherztransplantation und CsA-Gabe beobachtet. Auch in einer anderen Stammkombination konnte Toleranz nach Herztransplantation und CsA-Gabe durch suppressiv wirkende, alloantigenspezifische T-Lymphozyten auf andere Tiere übertragen werden (2). Andere Autoren beobachteten auch in der Spätphase nach CsA-induzierter Toleranz noch unspezifische Suppression (4, 5). Da bei Toleranz nach Transplantation eines MHC und non-MHC inkompatiblen Organs nicht nur Suppression gegen Antigene der Klasse 1, sondern wahrscheinlich gegen eine größere Zahl von Antigenen (Klasse 1, Klasse 2, non-MHC Antigene) auftritt, könnten für die Ausbildung der Toleranz mehrere, eventuell auf verschiedenen Ebenen der Immunantwort (Afferenz, Efferenz) regulierende Suppressorsysteme mit zum Teil unspezifischer Wirkung auftreten. Die

von uns beobachteten Suppressorzellen würden in der Afferenz der Immunantwort ansetzen (MLR). Durch die adoptive Zellübertragung kann gezeigt werden, daß sie auch in vivo die Reaktivität des Zellempfängers, gemessen an den Abstofsungszeiten der Hauttransplantate, spezifisch gegen Spenderantigene supprimieren können. Darüber hinaus muß ein eigenständiger Einfluß des Lebertransplantates bei der ORLT auf die Transplantate diskutiert werden, da bei der Ratte in bestimmten Spender-Empfängerkombinationen oft spontan, das heißt ohne Immunsuppression Toleranz auftreten kann. Als Ursachen für die Spontantoleranz werden sowohl Suppressormechanismen als auch Antigen-Antikörperkomplexe diskutiert. Der fehlende Nachweis von Antikörpern nach CsA-Gabe kann daher nicht nur auf die suppressive Wirkung des CsA zurückgeführt werden, sondern möglicherweise liegt hier ein funktionelles Fehlen der Antikörper durch Bildung von Antigen-Antikörperkomplexen vor, da diese mit unserem Test nicht erfaßt werden.

Literatur

1. Nagao, T., White, D. J. G., Calne, R. Y.: Kinetics of unresponsiveness induced by a short course of cyclosporin A. *Transplantation* 33, 31-35 (1982).
2. Hall, B. M., Jelbart, M. E., Dorsch, S. E.: Suppressor T-cells in rats with prolonged allograft survival after treatment with cyclosporin. *Transplantation* 37, 595-600 (1984).
3. Engemann, R., Ulrichs, K., Thiede, A., Müller-Ruchholtz, W., Hamelmann, H.: Induction of liver graft tolerance in a primarily non tolerant rat strain combination with temporary treatment of cyclosporin. *Transplant Proc.* 15, 2986-2991 (1983).
4. Dunn, D. C., White, D. J. G., Herbertson, B. M.: Persistent nonspecific immunosuppression after a course of cyclosporin A. *Transplantation* 29, 349-351 (1980).
5. Homan, W. P., Fabre, J. W., Morris, P. J.: Nature of the unresponsiveness induced by cyclosporin A in rats bearing renal allografts. *Transplantation* 28, 439-441 (1979).

Anschrift des Verfassers: R. Engemann, Chirurgische Universitätsklinik Kiel, Hospitalstraße 40, D - 2300 Kiel (BRD)

Chirurgische Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf
und Department of Surgery University of Chicago/USA¹

Szintigraphischer Nachweis transplantierte Hepatozyten in Milz und Leber

Von D. HENNE-BRUNS, B. KREMER, K. GRAMMINGER und CH. BRÖLSCH¹

Das akute Leberversagen hat trotz zahlreicher Ansätze nach wie vor eine hohe Mortalität. Auch wenn der entstandene Leberschaden reversibel ist, so ist doch die zu überbrückende Zeitspanne bis zur Regeneration des Leberparenchyms meistens zu lang, um einen derartigen Leberausfall zu überleben. In derartigen Fällen, z. B. bei einer Intoxikation, erscheint eine Transplantation von Hepatozyten zur funktionellen Unterstützung für ein limitiertes Zeitintervall sinnvoll. Die Funktion transplantierte Hepatozyten zu beweisen, stellt dabei ein zentrales Problem dar. Im Rattenmodell kann der Funktionsnachweis an Hand längerer Überlebenszeiten nach 1. chirurgisch induzierten und 2. nach toxisch induzierten Leberversagen erbracht werden (3). Eine dritte Möglichkeit besteht im Rattenexperiment in der Aufhebung eines angeborenen, erblichen Enzymdefektes durch die transplantierte Hepatozyten (2, 4).

Im Großtierversuch läßt sich hingegen ein akutes Leberversagen längst nicht so standardisiert erzeugen wie in der Ratte. Ferner ist es nicht möglich, die Funktion transplantierte Hepatozyten bei gesundem Leberparenchym nachzuweisen, da zwischen der