

C. Ricordi et al. (Surgery 107, 688-694, 1990) vor ca. 6 Monaten etabliert. Sie wird zur Verbesserung der Isolierungsleistung derzeit von uns weiterentwickelt. Bis heute wurden damit 45 Isolierungen durchgeführt, 36 an Schlachthauspankreaten (ca. 30 min warme Ischämie) und 9 an Pankreaten nach Explantation im Labor (keine warme Ischämie). Abhängig vom Alter der Spendertiere und der Dauer der warmen Ischämie lassen sich zwischen 300 und 2.500 Inseln/g Pankreas mit > 90 % Viabilität regelmäßig isolieren. Unsere methodischen Anstrengungen konzentrieren sich auf die 2-Stufen-Reinigung der enzymatisch verdauten Inseln: Dichtegradientenzentrifugation gefolgt von der im hiesigen Institut entwickelten elektromagnetischen Zelltrenntechnik. Erste Ergebnisse mit diesem Verfahren signalisieren > 99% Inselreinheit. Dieser hohe Reinheitsgrad der Inseln erscheint auch für die klinische Transplantation dringend erwünscht, da wir in früheren Untersuchungen nachweisen konnten, daß von dem exokrinen Gewebe ein hohes Maß an Immunogenität ausgeht.

P-34

Die zellvermittelte Immunantwort des menschlichen Transplantatempfängers gegen xenogenes Antigen (Schwein) ist abhängig vom Spenderkompartiment

K. Ulrich, V. Eckstein, A. Heiser, W. Müller-Ruchholtz
Institut für Immunologie an der Universität Kiel

Trotz erster klinischer Erfahrungen mit der Xeno-Transplantation ist noch sehr wenig bekannt über die zellvermittelte Immunantwort des menschlichen Transplantat-Empfängers gegen das xenogene Antigen, z.B. isolierte Pankreasinseln des Schweines. Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es deshalb, die zellvermittelte In-vitro-Immunantwort menschlicher Blutlymphozyten gegen Stimulatorlymphozyten des Schweines aus unterschiedlichen lymphatischen Kompartimenten in der "Gemischten-Lymphozyten-Kultur" (MLC) und gegen isolierte Pankreasinseln des Schweines in der "Gemischten-Lymphozyten-Insel-Kultur" (MLIC) zu testen.

Ergebnisse (1) Im Gegensatz zu wiederholten Äußerungen in der Literatur ist eine erhebliche Immunantwort im System "Mensch gegen Schwein" in der MLC/MLIC erkennbar. (2) Die Stärke der Immunantwort ist nicht nur abhängig vom untersuchten Stimulator-Kompartiment Blut > Milz > Lymphknoten > Pankreasinsel sondern auch vom jeweiligen menschlichen Responder. (3) Die Immunantwort in der MLC/MLIC ist mit der Anzahl der Antigen-präsentierenden Zellen korreliert, d.h. wahrscheinlich mit den MHC-Klasse-II positiven Makrophagen innerhalb der xenogenen Stimulatorzell-Population (FACS-Analyse). (4) Der Reinheitsgrad der Stimulator-Pankreasinseln bestimmt ebenfalls das Ausmaß der Immunantwort (ungereinigte Inseln >> handverlesene Inseln).

Schlußfolgerungen (I) Die Wahl des Stimulator-Kompartimentes bestimmt die Stärke der zellvermittelten Immunantwort in der MLC/MLIC (II) Transplantation isolierter Pankreasinseln des Schweines erfordert eine sorgfältige Vor-Reinigung der Inseln zur Verminderung der unerwünschten Transplantat-Immunogenität.

P-35

Immunsuppressive Effekte von Verapamil auf allo- und mitogen stimulierte humane T-Helfer-Zellen und zytotoxische T-Zellen

B. Zanker, S. Marx, K.H. Meyer zum Büschelfelde, H. Köhler
I. Medizinische Klinik, Mainz

Verapamil (Vera), ein Calciumantagonist vom Typ des Diphenylalkylamins, hemmt das Wachstum mitogen aktivierter Lymphozyten, obwohl bei T-Lymphozyten bisher keine calciumselektiven Ionenkanäle nachzuweisen sind. Offensichtlich sind die immunsuppressiven Effekte von den Ca^{++} - antagonistischen Wirkungen des Verapamil unabhängig.

Verapamil hemmt dosisabhängig im Bereich von 12 μ M - 100 μ M das mitogen induzierte Wachstum humaner Lymphozyten. Der anti-proliferative Effekt kann nicht durch exogen zugeführtes rIL-2 antagonisiert werden, und Vera supprimiert nicht die Expression aktivierungsinduzierter IL-2-Rezeptoren (CD 25). Die Wachstumshemmung durch Vera ist reversibel und kann aus den Zellen ausgewaschen werden. Vera hemmt dosisabhängig die Sekretion von Interleukin-2 sowohl in Blutlymphozyten als auch in JURKART T-Zellen. Im Gegensatz zu Cyclosporin A supprimiert Vera auch die zytotoxische Funktion reifer T-Zellen (CTL). Die Hemmung von allo- und mitogen aktivierten CTL durch Vera ist dosis- und zeitabhängig und kann nicht durch exogenes IL-2 antagonisiert werden. Northernblot-Analysen zeigen, daß Vera die mRNA für IL-2 und die T-zellspezifische Esterase, nicht aber Transkripte des c-myc proto-Onkogens supprimiert. Möglicherweise beruht die immunsuppressive Wirkung von Vera auf der Hemmung T-zellspezifischer Aktivierungsgene. Die inhibierende Wirkung von Vera auf reife CTL ist eine neue und möglicherweise für die Klinik relevante immunsuppressive Eigenschaft.

P-36

Anti-HLA-Antikörper nach Herztransplantation

H. Böttcher, N. Zavazava, J. Steinmann, W. Müller-Ruchholtz
Institut für Immunologie, Universität Kiel

Anti-HLA-Antikörper wurden bei 30 Patienten nach allogener Herztransplantation bestimmt, 13% von 46 Seren waren im Standardlymphozytotoxizitätstest gegen ein Testpanel von 50 Zellen positiv. Nach Hitzeinaktivierung bei 56°C erhöhte sich die Zahl positiver Seren auf 43%. Dieses Ergebnis konnte anhand einer größeren Zahl inaktivierter Seren (N=90) bestätigt werden und läßt eine thermische Dissoziation von komplexierten anti-HLA-Antikörpern vermuten. 80% der getesteten Patienten hatten im Untersuchungszeitraum therapiebedürftige Rejektionskrisen. Von diesen hatten 71% anti-HLA-Antikörper gebildet. Unter Vorbehalt der geringen Probenzahl läßt sich die Zunahme von antikörperpositiven Seren im Verlauf von biopsisch gesicherten zellulären Abstoßungskrisen als eine vermehrte humorale Reaktion deuten. In einem Fall wurde während einer Rejektionskrise ein vorher positiver Zytotoxizitätstest negativ. Die 1-Jahresüberlebensrate lag bei 80%, wobei zwei der untersuchten Patienten eine Retransplantation wegen rejektionsbedingter Herzinsuffizienz benötigten. Bei beiden konnten Antikörper gegen Donor-HLA-Spezifitäten nachgewiesen werden. Diese Untersuchungen zeigen zum erstenmal, daß die Sensitivität des Standardlymphozytotoxizitätstest in Seren von Patienten nach allogener Herztransplantation durch einfache Hitzeinaktivierung wesentlich erhöht wird.