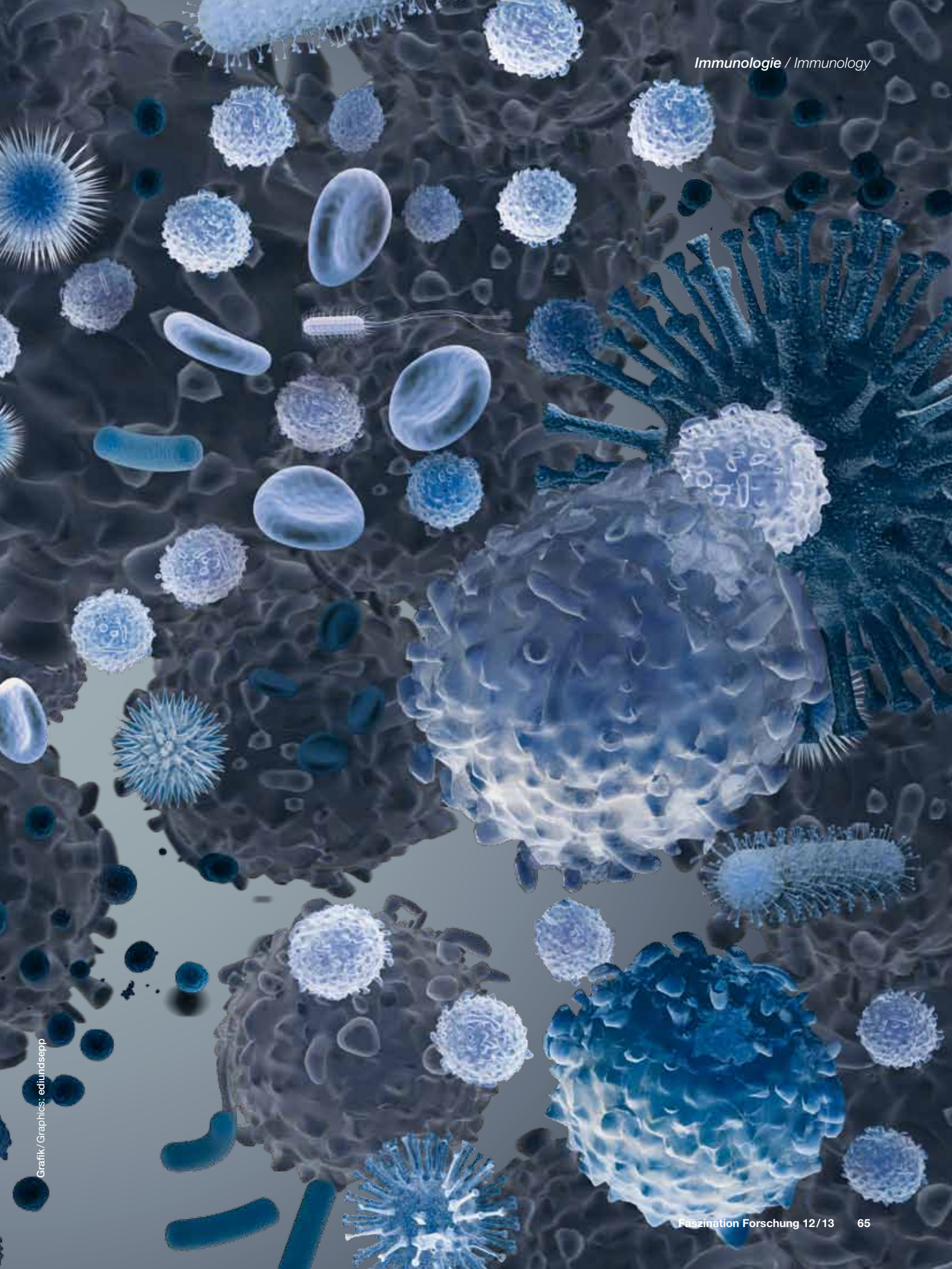
Gefährliches Ungleichgewicht

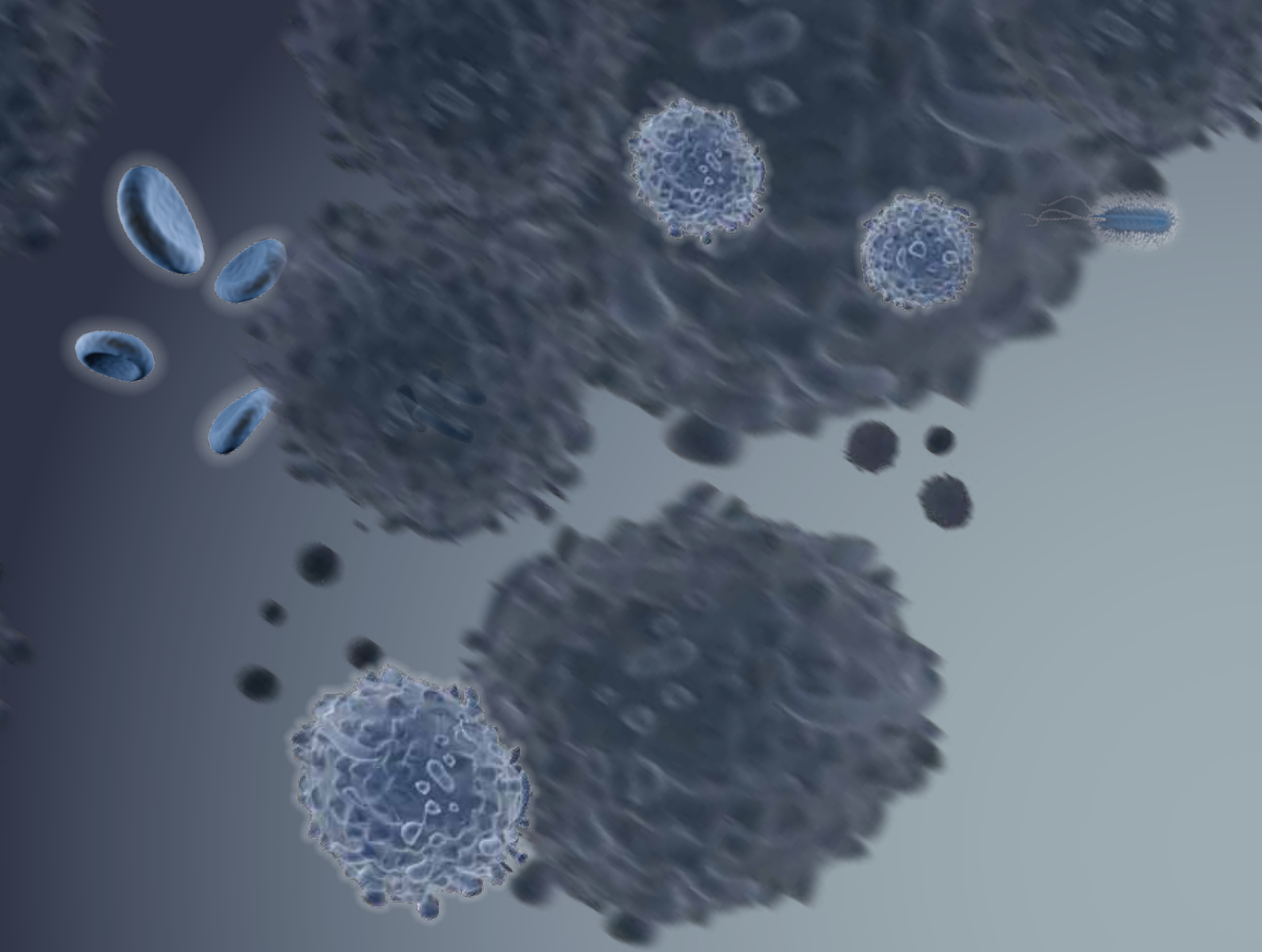
Wenn das Immunsystem aus dem Gleichgewicht gerät, kann es nicht nur Autoimmunerkrankungen, sondern auch die Entstehung verschiedener Krebsarten fördern. TUM Forscher wollen die Mechanismen verstehen und so die Entwicklung individueller Therapieansätze für unterschiedliche Tumorunterarten ermöglichen **Dangerous imbalance** A well-balanced immune system keeps us all fighting fit. Once this balance is disturbed, however, our immune systems can turn against us, triggering a range of autoimmune diseases and various types of cancer. Researchers at TUM want to understand the various mechanisms at work here and thus support the development of individual therapies for different types of tumors

Link
www.klinchem.med.tu-muenchen.de

Der menschliche Organismus kommt mit einer Vielzahl an Mikroorganismen in Kontakt. Diese Bakterien, Viren, Pilze oder Parasiten können zu schwerwiegenden Infektionserkrankungen führen. Die Zellen eines intakten Immunsystem sind in der Lage, diese Erreger zu erkennen und zu bekämpfen, um so den Körper zu schützen / The human body ist in contact with various micro organisms. These bacteria, viruses, fungi or parasites can cause serious infectious diseases. The cells of an intact immune system are able to recognize and to combat these agents and thus protect the human body



Grafik/Graphics: ediundsepp



Wenn Prof. Jürgen Ruland redet, dann ist er so auf das Wesentliche fokussiert, dass er am Ende fast vergisst, eine der jüngsten Errungenschaften seines Hauses anzusprechen: das gerade entstehende Forschungszentrum TranslaTUM für Translationale Onkologie, dessen Antrag er koordinierte und in dessen Laborräumen demnächst auch seine Mitarbeiter auf rund 5000 Quadratmetern die Bedeutung des Immunsystems in interdisziplinären Teams genauer untersuchen werden. „Wir wollen die komplexen Signalsysteme des Immunsystems bei der Entstehung von Krankheiten wie Krebs verstehen und darauf aufbauend neue diagnostische Methoden und Therapieansätze entwickeln“, fasst der Direktor des Instituts für Klinische Chemie in seinem Büro am Klinikum rechts der Isar der TU München seine Arbeit zusammen.

Signalverarbeitung im Immunsystem

Im Kern dreht sich bei Ruland alles um das balancierte Zusammenspiel von Hunderten von verschiedenen Molekülen und Zellen des Immunsystems. Etwa wenn nach einem Schnitt in den Finger Bakterien, Pilze oder Viren in den Körper gelangen und die Zellen des Immunsystems durch eine koordinierte Aktion eine Entzündungsreaktion entfachen, in deren Verlauf die Krankheitserreger abgetötet werden und der Heilungsprozess beginnt. Der Mediziner will nicht nur verstehen, wie das Immunsystem Gefahren durch Erreger erkennt, sondern auch wie es die Information über solche Eindringlinge weiterleitet und verarbeitet, sodass eine fein abgestimmte Abwehrreaktion des gesamten Systems möglich ist. Vor allem aber interessiert ihn, was passiert, wenn einer der Mitwirkenden dabei aus dem Takt gerät. Schon seit einigen Jahren gehen Forscher davon aus, dass Fehlsteuerungen des Immunsystems für den menschlichen Organismus gefährlich sind. Und zwar nicht nur wenn das Immunsystem als Folge zu schwach, sondern auch wenn es dabei zu stark reagiert. Wenn also die Immunreaktion nicht abklingen will, obwohl der Erreger längst verschwunden ist oder gar kein mikrobieller Erreger vorhanden war, und so aus einer akuten Entzündung eine chronische wird.

Tatsächlich vermuten Forscher, dass chronische Entzündungen den Ausgangspunkt für eine ganze Palette von Erkrankungen darstellen. Dazu gehören nicht nur Autoimmunerkrankungen wie Rheumatoide Arthritis, Morbus Crohn oder Multiple Sklerose, sondern auch bösartige Lymphome – ▷

Die Zellen des Immunsystems produzieren Botenstoffe, die man im Labor nachweisen kann / The cells of the immune system produce messenger agents, which can be detected in the laboratory

Immunzellen werden in kleinen Plastikgefäßen kultiviert und auf ihre Eigenschaften getestet / Immune cells are cultivated and tested for their properties in small plastic containers

When Prof. Jürgen Ruland speaks, he is very focused on his specialist subject. So focused, in fact, that he almost forgets to mention one of his institutions latest achievements: the TranslaTUM research center for translational oncology which is currently being set up with help from funding via a proposal coordinated by Ruland. The new center will provide 5,000 square meters of lab space to him and his staff in which they are able to research the human body's immune system in interdisciplinary teams. "We want to understand the complex signal pathways of the immune system during the development of diseases such as cancer and to use our findings to develop new diagnostic methods and therapies," summarizes Ruland in his office as Director of the Institute of Clinical Chemistry at TUM's Klinikum Rechts der Isar hospital.

Signal processing in the immune system

Ruland's research focuses on the balanced interplay of hundreds of different molecules and cells in the immune system and how they interact when, for example, a cut on the finger enables bacteria, fungi or viruses to enter our bodies. This "invasion" causes the cells in the body's immune system to launch a coordinated defense, inducing an inflammatory reaction which kills pathogens and triggers the healing process. Ruland wants to understand how the immune system recognizes the dangers posed by pathogens. He also wants to know how information about these foreign bodies is transmitted and processed in order to trigger a finely tuned, highly coordinated immune response from the entire system. Above all, though, he wants to know what happens when one of these mechanisms start operating out of synch. For many years now, researchers have assumed that incorrect signal processing in the immune system can be dangerous for the human body, potentially triggering a response that could be too weak or – just as importantly – too strong. An over-reactive immune system may continue to attack cells long after the original pathogen has been destroyed or even without a microbial pathogen ever having been present. This behavior can turn an acute inflammatory response into a chronic condition.

In fact, researchers believe that chronic inflammation may lead to a wide range of diseases, including autoimmune disorders such as rheumatoid arthritis, Crohn's disease and multiple sclerosis. They also believe that these responses can trigger malignant lymphomas, a group of cancers that affect the ▷

Fotos / Picture credit: Eckert / TUM
Grafik / Graphics: ediundsepp

bestimmte Krebsarten des Lymphsystems. „Bei der Entstehung von Tumoren stellt das Immunsystem ein zweischneidiges Schwert dar“, erklärt Ruland. Es kann sie bekämpfen, aber auch fördern. Krebs beginnt meist mit einer Reihe genetischer Veränderungen, als deren Folge sich die betroffenen Zellen übermäßig vermehren und in das umliegende Gewebe einwandern. Bestimmte Immunzellen des angeborenen und des adaptiven Immunsystems wie natürliche Killerzellen und T-Lymphozyten können Tumorzellen vernichten. In einem chronisch entzündeten Umfeld haben manche Immunzellen aber einen gegenteiligen Effekt: So können Makrophagen dort zum Beispiel entartete Zellen zum Wachstum anregen oder bewirken, dass Blutgefäße in neu entstehende Tumoren hineinwachsen und so deren Versorgung mit Sauerstoff sicherstellen.

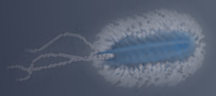
Entdeckung einer zentralen Schaltstelle

Auf der Suche nach den Ursachen für diese unerwünschte Aktivität von Abwehrzellen hat Ruland bereits einen wichtigen Meilenstein erreicht. Schon vor einigen Jahren entdeckte der 46-Jährige eine der zentralen Schaltstellen des angeborenen Immunsystems – den sogenannten CBM-Komplex. Er besteht aus drei Proteinen mit den nüchternen Bezeichnungen CARD9, BCL10 und MALT1. Um seine Wichtigkeit zu begreifen, muss man zunächst verstehen, was innerhalb einer Immunzelle passiert, wenn sie auf einen Krank- ▷

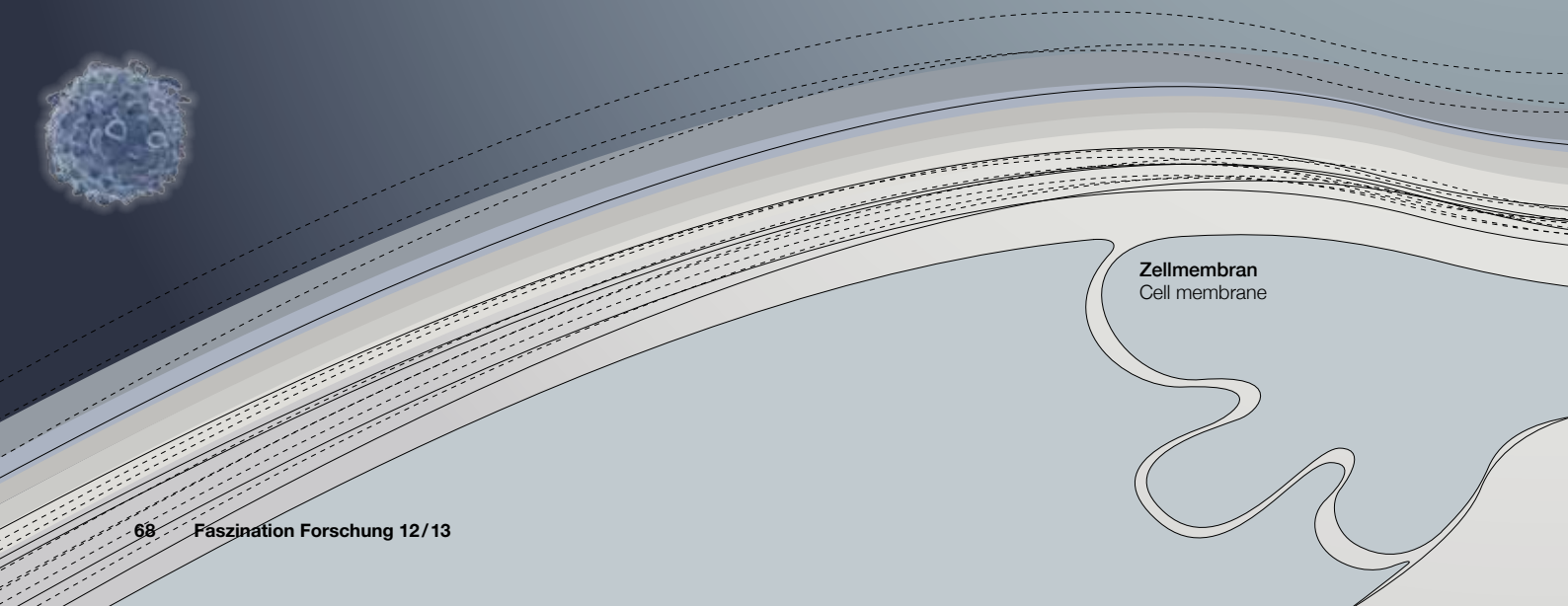
lymphatic system. “When tumors develop, the immune system becomes a double-edged sword,” explains Ruland. It can both fight and promote cancer development. Cancer usually starts with a range of genetic changes which cause the affected cells to multiply excessively and to migrate to surrounding tissues. Certain immune cells in the innate and adaptive immune systems – such as resident killer cells and T lymphocytes – are capable of destroying tumor cells. At the site of a chronic inflammation, however, some immune cells can have the opposite effect. Macrophages, for example, may stimulate the growth of abnormal cells or cause blood vessels to enter new tumors, thus ensuring them an oxygen supply.

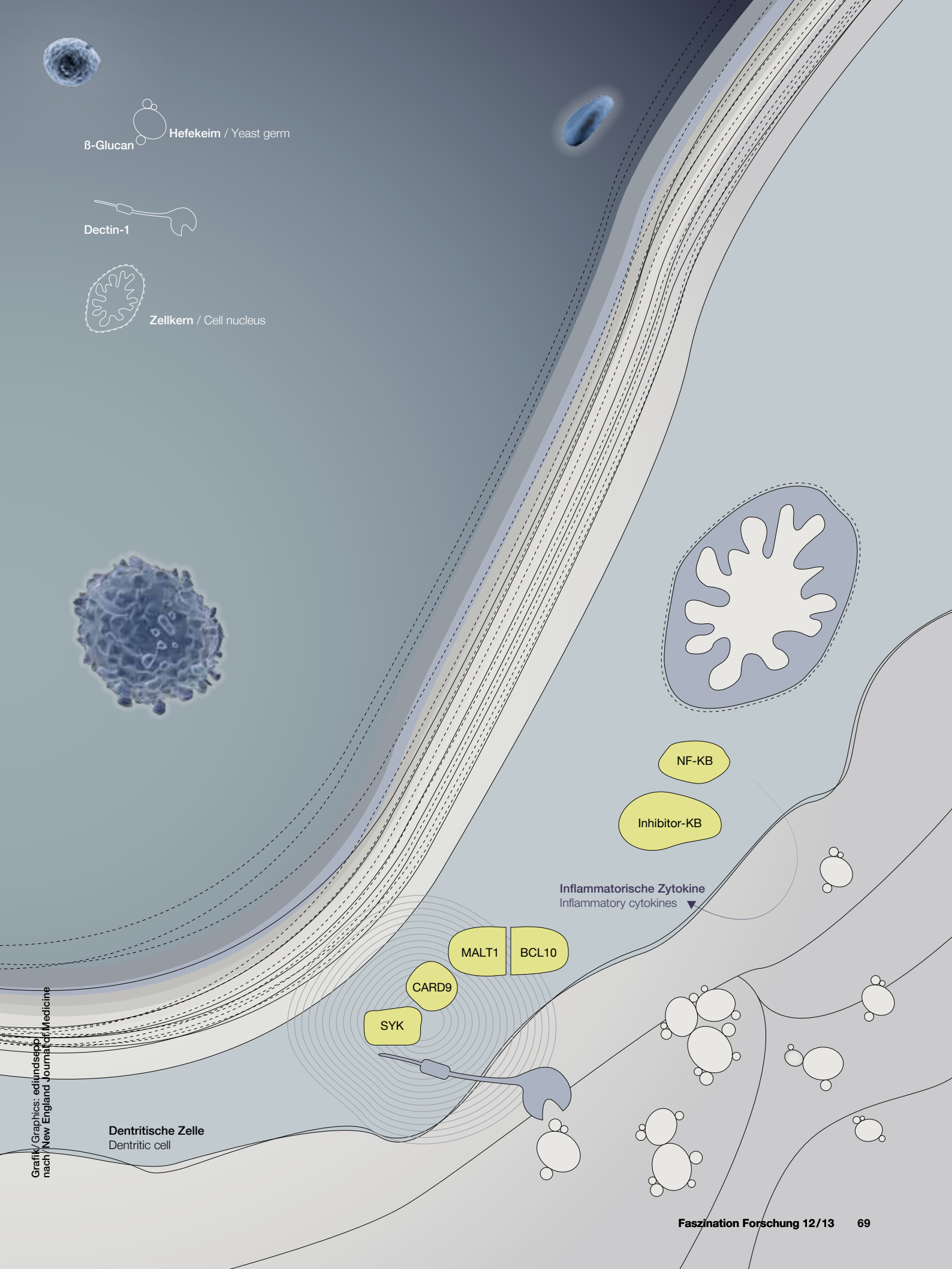
Discovery of a control center

Ruland has already made an important discovery in his search for the causes of undesirable immune cell activity. Several years ago, the 46-year-old uncovered the CBM complex, one of the control centers of the innate immune system. The CBM complex comprises three proteins known as CARD9, BCL10 and MALT1. To grasp the importance of this discovery, we first have to understand what happens inside an immune cell when it encounters a pathogen such as a fungus. The two elements first make contact at the cell’s surface. This is because cells in the innate immune system, such as macrophages or dendritic cells, have various receptor molecules, including Dectin-1, a type of receptor that reacts with pathogen structures in a ▷



Angriff eines Hefekeims auf die äußerste Zellschicht der Haut: Der Rezeptor Dectin-1 an der Zelloberfläche erkennt das am Hefekeim sitzende β-Glucan und sendet diese Information unter anderem über die Syk-Kinase und das Protein CARD9. Das bildet daraufhin mit BCL10 und MALT1 den sogenannten CBM-Komplex. Nur dann kann der Hauptagent für Entzündungsreaktionen, NF-kappaB, aktiv werden / Attack of a yeast germ on the outermost cells of the skin; On the cell’s surface, the receptor Dectin-1 identifies the β-Glucan of the yeast germ and sends this information to SKY-Kinase and to the protein CARD9. Subsequently, CARD9, BCL10 and MALT1 form the CBM-complex to activate NF-kappaB, the main agent for inflammatory responses



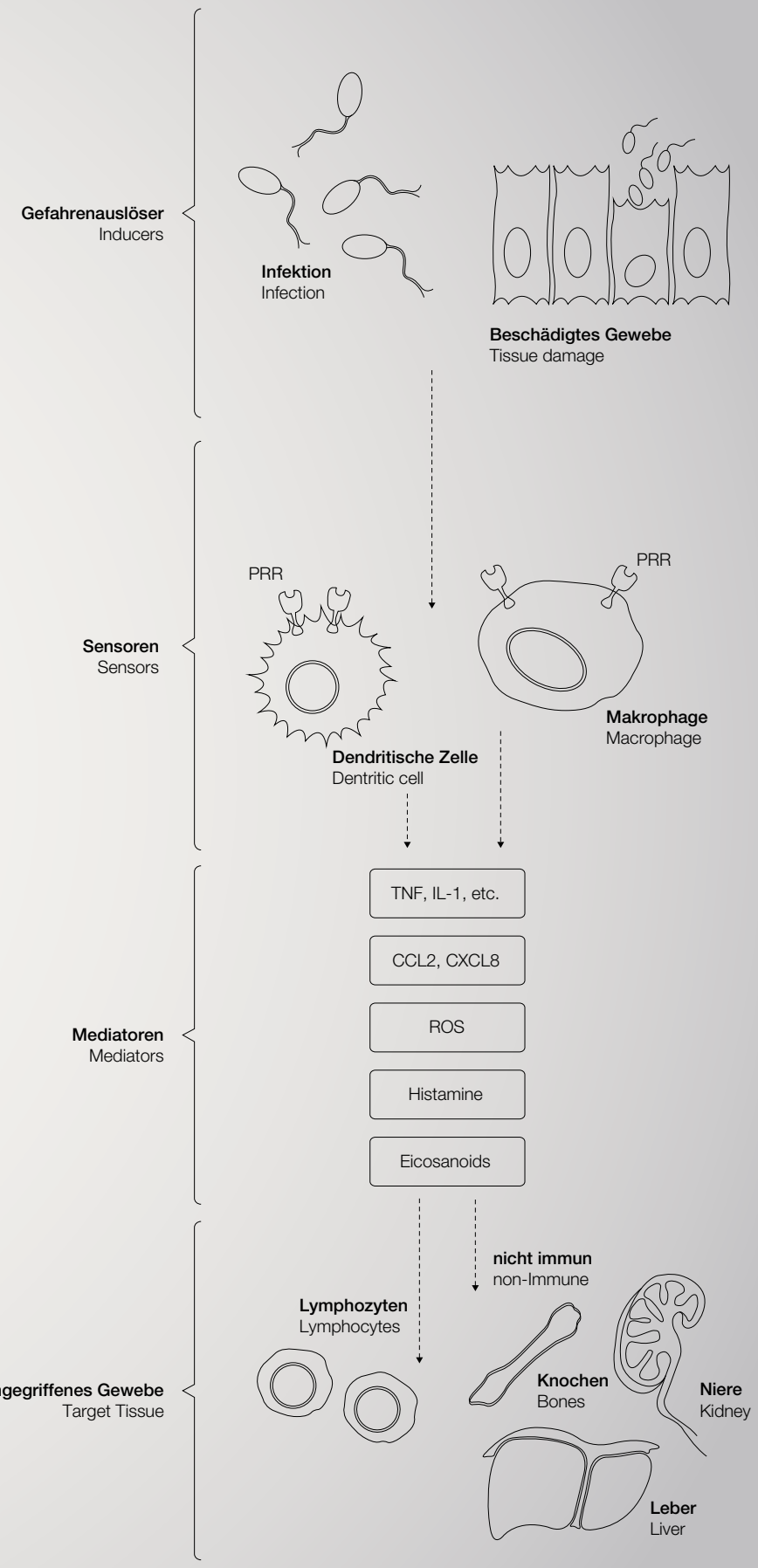


Grafik/Graphics: edlundsepp
nach/New England Journal of Medicine

heitserreger – etwa einen Pilz – trifft: Der erste Kontakt findet an ihrer Oberfläche statt. Zellen des angeborenen Immunsystems wie etwa Makrophagen oder dendritische Zellen tragen dort verschiedene Rezeptormoleküle – unter anderem die sogenannten Dectin-1-Rezeptoren, die bestimmte Erregerstrukturen erkennen, weil sie wie Schlüssel und Schloss zueinanderpassen. Wenn diese Strukturen an den Rezeptoren andocken, wird im Inneren der Abwehrzelle eine Kaskade biochemischer Reaktionen in Gang gesetzt. Einige der beteiligten Moleküle sind bereits bekannt – die Syk-Kinase etwa. Kinasen sind Enzyme, die andere Moleküle aktivieren und dadurch Signale zwischen verschiedenen Akteuren übertragen können. Vom Rezeptor gelangt die Nachricht über das Eindringen eines Krankheitserregers so über die Syk-Kinase und eine weitere Kinase (PKCdelta) zum CARD9-Protein, welches dann an die bereits aneinander gekoppelten Proteine BCL10 und MALT1 bindet. Sobald der CBM-Komplex vollständig ist, kann er über eine weitere Kinase den Hauptschalter von Entzündungsreaktionen aktivieren: NF-kappaB – ein Komplex aus mehreren Proteinen. „Für die normale Immunabwehr ist eine Aktivierung von NF-kappaB unbedingt notwendig“, sagt Ruland. Erst in seiner aktivierten Form wandert NF-kappaB in den Zellkern und kurbelt dort die für eine Abwehr notwendige Produktion von Proteinen an, die gleichzeitig den Zelltod verhindern, die Zellteilung anregen und die Entzündungsreaktion verstärken. „Wenn die Arbeit getan und der Erreger ▷

“lock and key” manner. What this actually means is that Dectin-1 receptors can only be “unlocked” by matching pathogen structures (keys). This contact triggers a cascade of biochemical reactions inside the defense cell. Some molecules involved, for example, the Syk kinase, have already been researched. Kinases are enzymes that activate other molecules and enable signals to be transmitted between different molecules. The Syk kinase and another kinase known as the PKCdelta transmit the information regarding the invading pathogen from the receptor to the CARD9 protein. The CARD9 protein then interacts with the BCL10 and MALT1 proteins that are already coupled with one another. Once the CBM complex is formed, it can use another kinase to activate the central trigger for inflammatory responses. This central trigger is known as NF-kappaB, a complex comprising several proteins. “The activation of NF-kappaB is crucial for a normal immune response,” says Ruland. Once it has been activated, NF-kappaB travels to the nucleus of a cell and triggers the production of proteins required for defense against pathogens. NF-kappaB activation also prevents cells from dying, triggers cell division and thus strengthens the immune response. “However, once the job has been done and the pathogen destroyed, NF-kappaB has to be deactivated,” continues Ruland. Although NF-kappaB is vital for ensuring a correct immune response, it also seems increasingly likely that – when chronically activated – NF-kappaB could be one of the control centers that stimulate the ▷

Keime oder auch beschädigtes Gewebe können Entzündungen hervorrufen. Sogenannte Pattern-Recognition-Rezeptoren (PRR) an dendritischen Zellen oder an Makrophagen erkennen diese Gefahren und schicken Signale Richtung Zellkern. Der Zellkern kontrolliert die Produktion von Mediatoren, das sind Stoffe, die eine Entzündungsreaktion auslösen. In der Folge werden die Schwachstellen im Körper, also zum Beispiel verletztes Gewebe, repariert. Produziert der Körper zu viel Mediatoren, können chronisch entzündliche Erkrankungen entstehen / Germs or damaged tissue can cause inflammations. Pattern recognition receptors (PRR) on the surface of dentritic cells or macrophages recognize the threat and send signals towards the cell nucleus. The nucleus controls the production of mediators or substances which trigger the inflammatory reaction. Subsequently, the damaged tissue is repaired. If the body produces too much mediators it can develop chronically inflammatory diseases

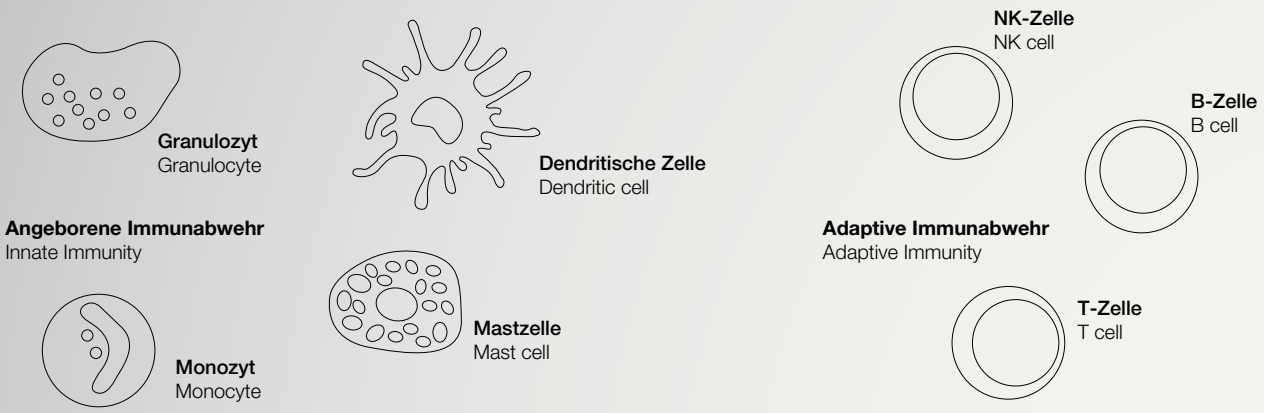


Fotos/Picture credit: Eckert/TUM
Grafik/Graphics: ediundsepp nach TUM

Angeborene und spezifische Immunabwehr

Die angeborene Immunabwehr entwickelte sich in der Stammesgeschichte der Lebewesen schon sehr früh. Ihre Makrophagen, Mastzellen, Granulozyten, dendritische Zellen und natürliche Killerzellen reagieren schnell und unspezifisch auf Krankheitserreger und bilden eine erste Abwehrfront. Die adaptive bzw. spezifische Immunabwehr kann sich dagegen auf neue und veränderte Krankheitserreger einstellen. Bei Kontakt mit Erregern reagieren T-Zellen und antikörperproduzierende B-Zellen langsam, dafür sehr treffsicher. Gedächtniszellen ermöglichen eine lang währende Immunität.

An innate immune system developed in animals at a very early stage of evolution. Its macrophages, mast cells, granulocytes, dendritic cells and natural killer cells react quickly and non-specifically to pathogens. They form a first line of defense against infection. **An adaptive immune system,** also known as the specific immune system, is able to react to new and modified pathogens. Upon contact with infections, T cells and antibody-producing B cells react slowly, but with great precision. The adaptive immune system develops memory cells to ensure long-lasting immunity.



vernichtet ist, muss NF-kappaB allerdings wieder deaktiviert werden“, erklärt Ruland. Denn NF-kappaB gilt zwar als unabdingbar für den Ablauf von Entzündungsreaktionen, immer mehr deutet aber darauf hin, dass er – chronisch aktiviert – auch eine der Schaltstellen darstellt, welche die Entstehung von Krebs und anderen Erkrankungen fördern. Bisher ist nur wenig darüber bekannt, wie NF-kappaB nach vollbrachter Tat wieder in seinen Ruhezustand zurückkehrt. Ruland hat diesen Abschaltmechanismus deshalb genauer unter die Lupe genommen und gleich mehrere Schaltstellen gefunden. Inzwischen weiß man, dass genetische Veränderungen in den Genen dieser Schaltstellen unterschiedliche Formen bösartiger Lymphome verursachen können.

Fehler in der Signalübertragung

Der CBM-Komplex ist ein zentraler Schalter, über den Immunzellen NF-kappaB aktivieren. Und das nicht nur bei Infektionen mit Pilzen, Bakterien und Viren, sondern vermutlich auch bei sterilen Entzündungen – wenn Zellen ohne offene Verletzung massiv geschädigt wurden. Erst kürzlich wurde Jürgen Ruland vom Europäischen Forschungsrat (European Research Council, kurz: ERC) mit dem höchstdotierten Wissenschaftspreis der EU ausgezeichnet. Über fünf Jahre erhält er jetzt Fördergelder in einer Höhe von insgesamt 2,5 Millionen Euro, um die genauen Mechanismen zu analysieren, mit denen der CBM-Komplex die Entstehung entzündlicher Erkrankungen und Krebs beeinflusst. Wie aber findet man einen Komplex, von dessen Existenz niemand etwas ahnt? Die Entdeckung des BCL10-Proteins lässt sich noch auf Rulands Zeit als Postdoktorand am Ontario Cancer Institute in Toronto zurückführen. Damals zeigten Untersuchungen, dass bei Patienten mit B-Zell-Lymphom – einem bösartigen Tumor des Lymphgewebes – ein Teil des Gens des BCL10-Proteins quasi von einem Chromosom auf ein anderes gerutscht war. Die Struktur des Proteins war bekannt, mehr aber nicht. Um seine Funktion und Rolle bei der Krebserkrankung zu verstehen, begann Ruland, seine Gene und die verwandter Proteine systematisch zu verändern. „Vieles in unserer Arbeit lässt sich mithilfe von Zellkulturen analysieren. Sobald wir aber die Komplexität des Immunsystems berücksichtigen müssen, welches von der räumlichen und zeitlichen Interaktion unterschiedlicher Zellsysteme abhängt, sind Mäuse, die ein sehr ähnliches Immunsystem wie der Mensch besitzen, als Modellsysteme nicht zu ersetzen“, erklärt der Mediziner. ▷

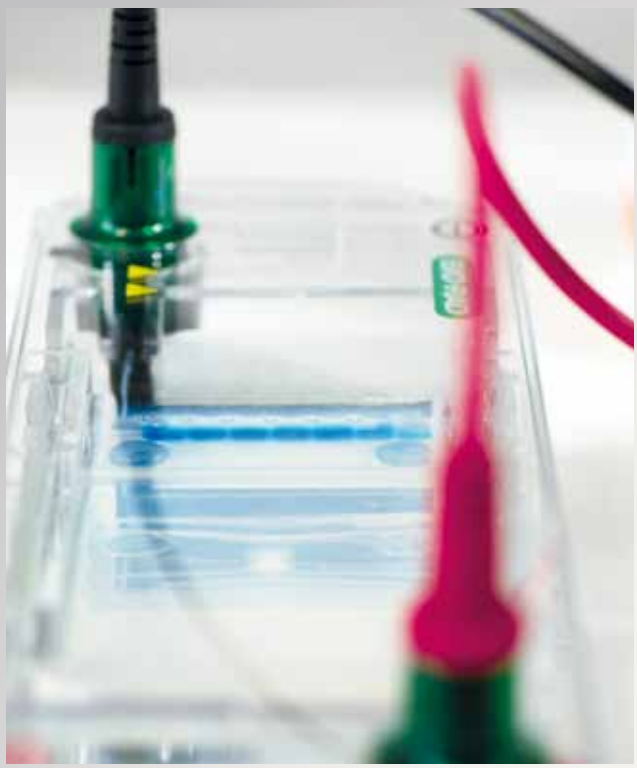
Der Immunologe Jürgen Ruland entdeckte mit dem CBM-Komplex einen zentralen Schalter des Immunsystems. Kürzlich erhielt der 46-Jährige 2,5 Millionen Euro vom Europäischen Forschungsrat, um die genaue Funktionsweise des CBM-Komplexes zu analysieren / The immunologist Jürgen Ruland discovered one of the immune system's central triggers, the CBM complex. Recently, the European Research Council granted him EUR 2.5 Million to analyze the precise mechanisms behind the CBM complex

development of cancer and other diseases. Until now we have had only limited insights into how NF-kappaB returns to its dormant state once it has done its job. For this reason, Ruland chose to take a closer look at its deactivation mechanism – and he soon found a number of control centers. We now know that changes to the genes in these control centers are able to cause different kinds of malignant lymphomas.

Errors in signal processing

The CBM complex is a central trigger that enables immune cells to activate NF-kappaB when fungi, bacteria or viruses enter the body. However, it also seems that NF-kappaB can be activated in the event of sterile inflammation, i.e. when cells suffer serious damage even though the individual has not sustained an open wound. Ruland was recently awarded the EU's highest endowed science grant by the European Research Council, receiving a total of EUR 2.5 million in funding. Ruland will be using this grant to analyze the precise mechanisms that the CBM complex employs to influence the development of inflammatory diseases and cancer. But just how do you go about finding a complex that might not even exist? Ruland's discovery goes back to when he was a post-doc researcher at the Ontario Cancer Institute in Toronto. Investigations at that time revealed that part of the gene of the BCL10 protein in patients with B-cell lymphoma, a malignant tumor in lymphatic tissue, had "slipped" from one chromosome to another. Scientists knew about the structure of the protein, but nothing else. Ruland began to systematically change genes and the related proteins to find out what role they played in this cancer. "In our line of research, we can use cell cultures to analyze ▷

Fotos/Picture credit: **Eckert/TUM**
Grafik/Graphics: **ediundsepp**



Mithilfe von Elektrophorese werden Proteinmischungen (blau) in einzelne Proteine getrennt / Electrophoresis separates a mixture of proteins (blue) into its individual proteins

Eine Mitarbeiterin in Rulands Labor zählt Zellen unter dem Mikroskop / Counting cells under the microscope in Rulands laboratory

Für seine Studien entfernte er aus dem Erbgut von Mäusen bestimmte Gene (knock out) oder fügte kranke Gene von Patienten ein (knock in). Die Auswirkungen solcher Manipulationen ermöglichen es den Forschern, über Rückschlüsse die Funktion der jeweiligen Gene näher zu bestimmen. Auf diesem Weg entdeckte Ruland, wie bestimmte B-Zell-Lymphome entstehen, aber auch dass BCL10 und seine Bindeproteine CARD9 und MALT1 wichtige Schalter in der Signalübertragung von Immunzellen darstellen. Nicht nur das Ergebnis, auch der Weg dorthin ist exemplarisch für Rulands Forschung: „Unsere Studien basieren auf genetischen Veränderungen von Patienten, die wir analysieren und in experimentelle Systeme übersetzen, um so die Funktion der betroffenen Gene aufzuklären." Mit diesem Ansatz konnten bereits verschiedene Unterarten von Lymphomen aufgespürt werden, die auf unterschiedlichen Fehlern in der Signalübertragung beruhen. Wie das Lymphom, das sich auf Fehler in dem BCL10-Gen zurückführen lässt. Der Wissenschaftler hofft, in der Zukunft mit seinem Ansatz die Signalwege noch genauer zu ergründen. Das ganz große Ziel ist aber, irgendwann jede Tumorunterart entsprechend ihrer genauen Ursache klassifizieren und damit behandeln zu können. *Autorin: Karoline Stürmer*

many things. The immune system, however, is complex and depends on the spatial and temporal interaction of different cell systems. Once we start working in this environment, we have to use mice as they have an immune system which is very similar to our own," he explains. During his research, Ruland removed certain genes (knockout) from mice, or added mutated genes from human patients (knock-in). The effects of these manipulations allow the researchers to draw conclusions about the function of the genes in question. Ruland thus discovered how certain B-cell lymphomas develop. He also found out that BCL10 and its binding proteins CARD9 and MALT1 form important triggers for the transfer of signals from immune cells. "Our studies are based on the genetic changes that take place in patients. We analyze these changes and transfer them to experimental models to find out how the genes in question function." This approach has helped to track down different subcategories of lymphoma caused by various errors in signaling, including the lymphoma caused by defects in the BCL10 gene. The researcher hopes that this approach will enable signal pathways to be examined and understood more clearly in the future. The ultimate aim, however, is to be able to classify every tumor type according to its exact cause and develop targeted treatments. *Author: Karoline Stürmer*

Fotos / Picture credit: **Eckert/TUM**