

SERIE: AKTUELLE IMMUNOLOGIE (6)

Programmierter Zelltod

Volker Wahn, Berlin

Menschliche Gewebe können mechanisch (Trauma), durch Verätzungen (Säuren, Laugen), Verbrühungen, Verbrennungen, Erfrierungen, Gefäßverschlüsse, toxische Einflüsse, ionisierende Strahlung oder andere Mechanismen zerstört werden. Daneben aber gibt es physiologische Mechanismen, über die einzelne Zellen ganz gezielt im Sinne eines definierten Programms abgetötet werden können. Über solche Mechanismen soll hier orientierend berichtet werden. Abschließend wird dargestellt, bei welchen spezifischen Erkrankungen des Immunsystems Defekte des programmierten Zelltodes ursächlich eine Rolle spielen.

Wichtige Formen des programmierten Zelltodes

In der Literatur wurden bei ultrastrukturellen Untersuchungen zunächst Apoptose und Nekrose beschrieben. Bei der Nekrose schwellen Zellen an, die Plasmamembran zerreißt und intrazelluläre Substanzen werden freigesetzt. Bei der Apoptose schrumpfen die Zellen, die Zellmembranen werden zerzaust, die Zellkerne werden kondensiert und fragmentiert [12]. Da die Nekrose keinem spezifischen Programm folgt, wird sie hier nur am Rande im Zusammenhang mit anderen Mechanismen diskutiert.

Wie wichtig solche programmierten Vorgänge sind, die hier ohne Anspruch auf Vollständigkeit dargestellt werden, zeigt sich bei folgenden Beispielen:

- Embryogenese: Viele Organe können sich nur ausdifferenzieren, wenn überflüssige Zellen eliminiert werden.
- Im Darm werden abgestorbene Enterozyten in das Darmlumen abgegeben und dafür neue gesunde Zellen nachgebildet.
- Virus-infizierte Zellen oder Tumorzellen können mithilfe des Immunsystems abgetötet werden.

Vier Formen des programmierten Zelltodes sind bekannt [12]. Charakteristika sind in Tabelle 1 kurz beschrieben.

Tabelle 1. Charakteristika der vier Formen des programmierten Zelltodes

Programmierter Zelltod	Merkmale
Apoptose	Physiologische programmierte Form des Zelltodes in einer Vielzahl von Zellen Zentrale Rolle von Caspasen (= Cystein-Aspartyl-Proteasen) Apoptotische Zellen exprimieren an der Oberfläche „Friss mich“-Signale, die eine Eliminierung mittels Efferozytose erlauben
Nekroptose	Inflammatorische Form des Zelltodes, ausgelöst durch Substratmangel oder Toxizität. Zentrale Rolle von RIPK3 (Receptor Interacting Serine Threonine Kinase 3)
Pyroptose	Über das Inflammasom und Caspase-1 vermitteltes Todesprogramm, das der intrazellulären Erregerkontrolle dient
NETose	Sonderform bei Neutrophilen mit Bildung von NETs (Neutrophil Extracellular Traps)

Diese vier Mechanismen lassen sich nicht strikt voneinander trennen und laufen zum Teil parallel ab. Gemeinsamkeiten und Unterschiede werden im Folgenden beschrieben. Alle Abbildungen sind in zwei animierten Teilen als [Video](#) verfügbar. Zusätzlich gibt es Kommentare zu den beiden Teilen: [Teil 1](#); [Teil 2](#). Wir werden in diesem Printbeitrag nur Grundzüge diskutieren. Für weitere Details muss auf die zitierte weiterführende Literatur verwiesen werden.

Warum gibt es Zelltod-Programme? Es gibt eine Reihe von Gründen, die unter anderem zeigen, dass solche Programme für unser Immunsystem durchaus nützlich

sein können, aber auch Gefahrenpotenzial haben, z. B. bei der Förderung inflammatorischer Prozesse. Folgende biologische Auswirkungen auf das Immunsystem sind möglich:

- Lymphozyten-Entwicklung: „Death by neglect“ bei ineffizienten oder autoreaktiven Rezeptoren auf B- und T-Zellen.
- Reife B- und T-Zellen: Kontraktion von Effektorpopulationen nach beendeter Aufgabe.
- Zytotoxische T-Lymphozyten: Zerstörung von Virus-infizierten und Tumorzellen.
- Bei Nekro- und Pyroptose: Bildung von DAMPs (danger associated molecular patterns) und proinflammatorischen Zytokinen → Entzündungsreaktion.

Apoptose

Von allen Formen des programmierten Zelltodes ist die Apoptose sicher am längsten bekannt. Abbildung 1 verdeutlicht die Initiierung der Apoptose.

Nach Identifizierung des klassischen Weges wurde entdeckt, dass Apoptose zusätzlich über einen intrinsischen Weg zustande kommen kann. Er wird auch als mitochondrialer Weg bezeichnet. Dieser Weg wird durch verschiedene Mitglieder der Bcl-2 Familie (B-cell lymphoma 2) wie BAK oder BAX, die pro- oder antiapoptotische Wirkungen haben, reguliert. Bei Übergewicht proapoptotischer Signale wird Cytochrom C aus Mitochondrien freigesetzt und Apoptose ermöglicht.

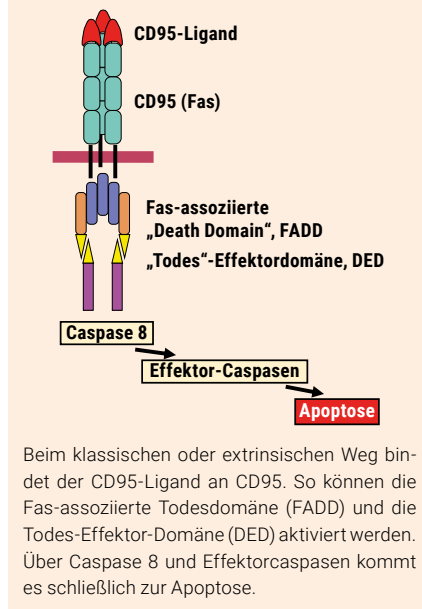
Abbildung 2 verdeutlicht die Unterschiede zwischen extrinsischem und intrinsischem Weg.

Eine zentrale Rolle bei der Apoptose spielen bestimmte Cysteinylproteasen (Cystein im aktiven Zentrum), die wegen ihrer Spezifität C-terminal von Aspartat als Caspasen bezeichnet werden. Die in Tabelle 2 genannten Caspasen sind bekannt [5].

Die Caspasen haben somit unterschiedliche Funktionen. Einige sind an der Apoptose beteiligt, andere fördern inflammatorische Vorgänge. IL-1 und IL-18 sind als proinflammatorische Zytokine hinlänglich bekannt. Gasdermin ist ein Substrat für bestimmte Caspasen, als Effektormolekül an Inflammation und Pyroptose (s. unten) beteiligt. Gasdermin D ist unter anderen in der Lage, transmembranöse Poren auszubilden. Im Ruhezustand einer Zelle ist es durch Autoinhibition inaktiv.

Was nun triggert das „Todesprogramm“? Als wichtige Faktoren wurden Mitglieder der TNF-Familie identifiziert, so etwa der Fas-Ligand oder TNF-W [12]. Als Rezeptoren

Abbildung 1. Klassische Apoptose (vereinfacht)



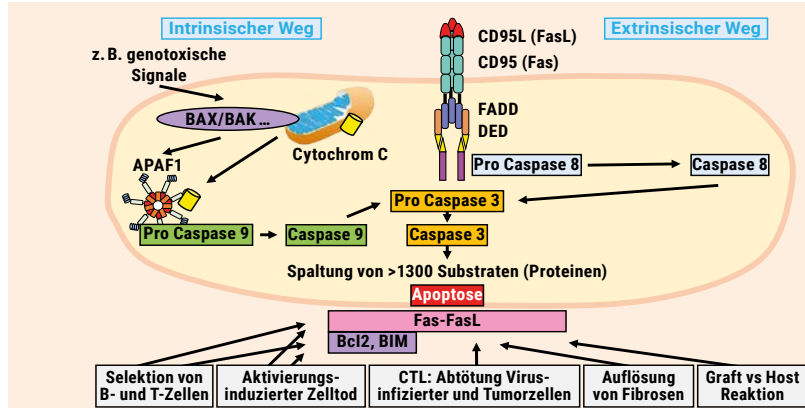
modifiziert nach [1]

ren fungieren Mitglieder der TNF-Rezeptorfamilie, in erster Linie Fas (= APO-1 oder CD95). Hinsichtlich molekularer Details sei auf die Arbeit von Nagata verwiesen [11, 12]. Entscheidende Schritte bei der Apoptose werden durch Spaltprodukte der Caspase 3 vermittelt: Blasenbildung der Zellmembran (Spaltprodukt ROCK1, Rho-kinase 1), DNA-Fragmentierung (Spaltprodukt ICAD, Inhibitor of caspase-activated DNase), und die Exposition von Phosphatidylserin (PtdSer, s. unten) (Spaltprodukte ATP11A/C [ATPasen] und XKR8 [XK-Related Protein 8]).

Abbildung 3 verdeutlicht, wie es zur Exposition von Phosphatidylserin kommt.

Apoptotische Zellen, die Phosphatidylserin an der Oberfläche tragen, werden von Phagozyten mittels Efferozytose eliminiert.

Abbildung 2. Intrinsischer und extrinsischer Weg der Apoptose



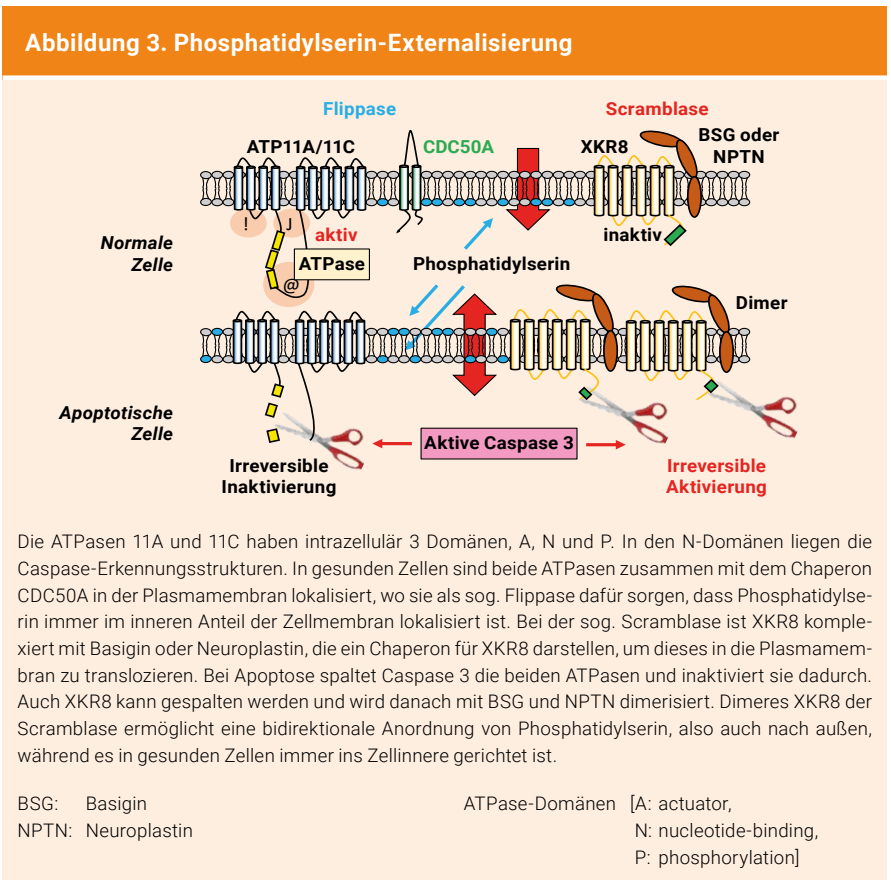
Der extrinsische Weg wird wie schon erwähnt durch die Interaktion von Fas mit seinem Liganden getriggert. Caspase 8 wird aktiviert und aktiviert danach Caspase 3. Beim intrinsischen Weg spielen Mitochondrien eine wichtige Rolle. Dieser Weg kann z. B. durch genotoxische Signale, aber auch Glukokortikoide, DNA-Schäden oder Zytokinenzug getriggert werden. Proapoptotisches Bcl2-assoziiertes BAX, der Bcl2-Antagonist BAK und andere Proteine regulieren die Freisetzung von Cytochrom C aus Mitochondrien und fördern die Zusammensetzung des Apoptosoms, einem heptameren Komplex aus APAF1, Pro-Caspase 9 und Cytochrom C. Aus der Procaspase 9 entsteht reife Caspase 9, die nun ebenfalls aktive Caspase 3 erzeugt. Beide Wege sind an wichtigen immunologischen Mechanismen beteiligt, die in der Abbildung aufgeführt sind. Einige davon nutzen nur den extrinsischen Weg.

- | | |
|-----------------------------------|--|
| FasL: Fas Ligand | Bcl2: B-cell lymphoma 2 |
| FADD: Fas associated death domain | BIM: B cell lymphoma 2 homology 3 (BH3)-only protein |
| DED: Death effector domain | |
| BAX: BCL-2-associated X protein | APAF1: apoptotic protease-activating factor 1 |
| BAK: BCL-2 antagonist/killer | |

modifiziert nach [11]

Tabelle 2. Caspasen

Caspase	Hauptfunktion	Prozessierung von IL-1 β und IL-18	Prozessierung von Gasdermin
1	Inflammatorisch	+	GSDMD
2	Apoptotisch	-	-
3	Apoptotisch	-	GSDMD
4	Inflammatorisch	-	GSDMD
5	Apoptotisch	-	GSDMD
6	Apoptotisch	-	-
7	Apoptotisch	-	-
8	Apoptotisch/ Inflammatorisch	+	GSDMD
9	Apoptotisch	-	-
10	Apoptotisch	-	-
11	Inflammatorisch	-	GSDMD
12	Inflammatorisch	-	-
13	Nicht beim Menschen	-	-
14	Unklar	-	-

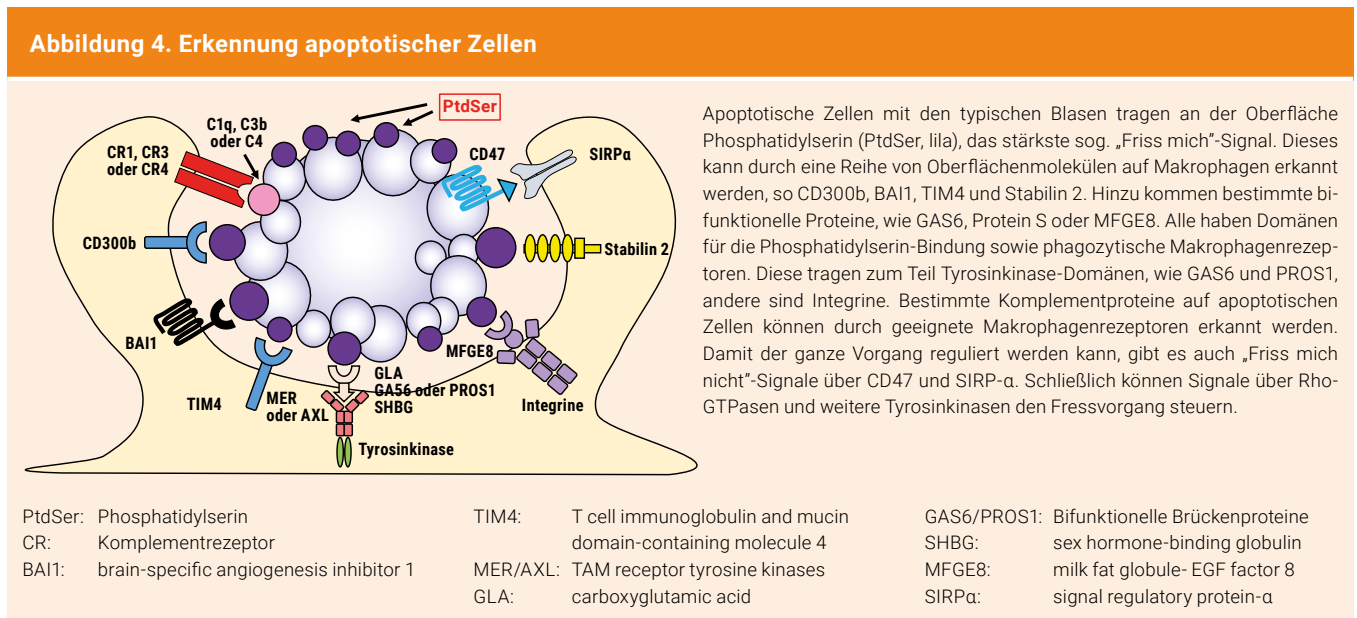


modifiziert nach [12]

Abbildung 4 zeigt die dafür notwendige Interaktion apoptotischer Zellen mit Makrophagen.

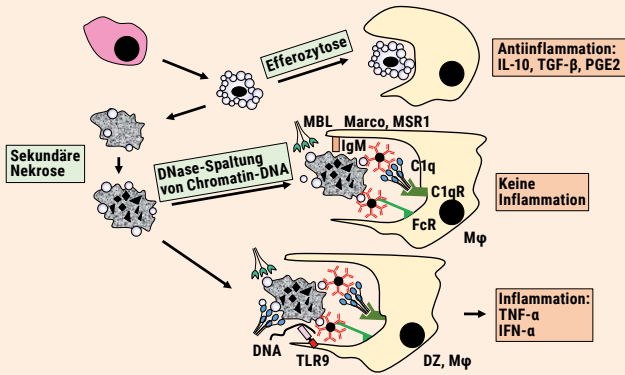
Wird Efferozytose nicht in angemessener Zeit erreicht, kommt es zur Nekrose, an der unter anderem Gasdermin E beteiligt

ist. Alle Mechanismen, über die apoptotische Zellen eliminiert werden, sind in der Abbildung 5 zusammengefasst.



modifiziert nach [6]

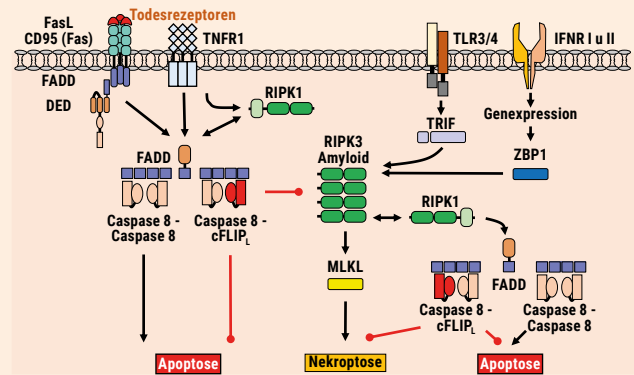
Abbildung 5. Was nun tun mit apoptotischen Zellen? Die Eliminierung.



Makrophagen können apoptotische Zellen über Efferozytose aufnehmen und entzündungshemmende Zytokine produzieren, wie etwa IL-10, TGF-β oder Prostaglandin E2. Gelingt die Elimination auf diesem Wege nicht, tritt eine sekundäre Nekrose ein. In der nekrotischen Zelle erfolgt eine Spaltung der DNA mittels verschiedener DNasen. Das Produkt wird von Makrophagen umflossen und erkannt. Beteiligt sind das Mannose-bindende Lektin, Marco und MSR1, Strukturen, die Zelltrümmer erkennen können sowie IgM, das C1q bindet und die Verbindung zum C1q Rezeptor herstellt. IgM kann zudem an den entsprechenden IgMfc-Rezeptor binden. Gelingt die Zellelimination auf diesem Wege, kommt es zu keinen inflammatorischen Reaktionen. Nur wenn diese Elimination nicht gelingt, können z. B. der Toll-like-Rezeptor 9 durch DNA getriggert und proinflammatorische Zytokine synthetisiert werden.

modifiziert nach [12]

Abbildung 6. Wie unterscheiden sich extrinsische Apoptose und Nekroptose?

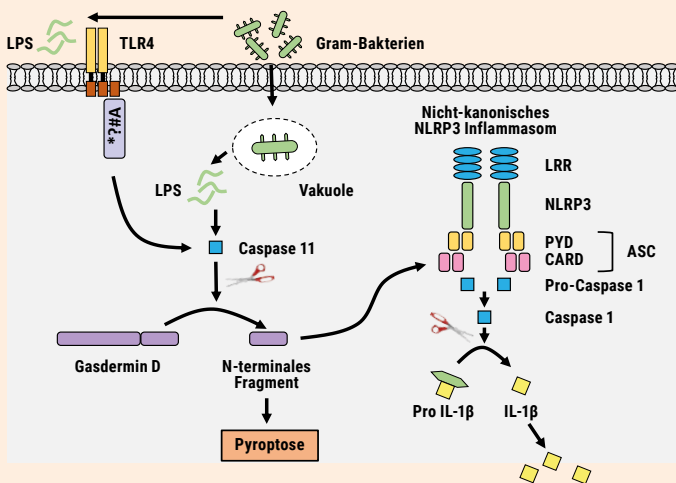


Nachdem Todesrezeptoren ins Spiel gebracht wurden, rekrutiert FADD Caspase 8 und cFLIP, um Apoptose zu regulieren. Caspase 8 Homodimere fördern Apoptose, Heterodimere mit cFLIP hemmen diese. Über den TNFR1 wird auch der RIPK1-vermittelte Zelltod gefördert. RIPK1 aktiviert dabei FADD und reguliert die Apoptose. Signale über TRIF-abhängige TLR3/4 oder Interferon-Rezeptoren und ZBP1 sorgen für Zelltod nach Assoziation mit RIPK1 und RIPK3. RIPK3 wird durch das Heterodimer gehemmt. RIPK3 fördert über MLKL Nekroptose. RIPK1 aktiviert zudem über FADD entweder das Heterodimer aus Caspase 8 und cFLIP oder das Caspase 8 Homodimer. Letzteres fördert Apoptose, während das Heterodimer sowohl Apoptose wie Nekroptose hemmt.

- FasL: Fas Ligand
- FADD: Fas associated death domain
- DED: Death effector domain
- cFLIP: FLICE [FADD-like IL-1β-converting enzyme]-inhibitory protein
- TRIF: TIR-domain-containing adapter-inducing interferon-β
- RIPK: Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase
- MLKL: Mixed lineage kinase domain like pseudokinase
- ZBP1: Z-DNA-binding protein 1

modifiziert nach [16]

Abbildung 7. NLRP3-Inflammasom und Pyroptose



LPS aus Gram-negativen Bakterien erzeugt Aktivierungssignale über den Toll-like Rezeptor 4 und assoziierte Adaptermoleküle wie TRIF. Über die Induktion von Typ-I-Interferon wird die Caspase 11 exprimiert. Zytoplasmatisches LPS gelangt aus den Vakuolen ins Zytoplasma nach Ruptur der Vakuole durch Guanylat-bindende Proteine und bindet dann an Caspase 11. Diese setzt das N-terminale Fragment von Gasdermin D frei und führt so zur Pyroptose. Das N-terminale Fragment aktiviert auch das NLRP3 Inflammasom mit seinen verschiedenen Domänen. Die aktive Caspase 1 setzt IL-1β aus Pro-IL-1β frei und wirkt so proinflammatorisch. Andere aktive Caspasen werden hier nicht weiter diskutiert.

- NLRP3: NOD-, leucine-rich repeat (LRR)- and pyrin domain (PYD)-containing protein 3
- LRR: C-terminal leucine-rich repeat
- PYD: Pyrin domain
- ASC: Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase activation and recruitment domain [CARD]

modifiziert nach [8]

Nekroptose

Gemeinsamkeiten und Unterschiede zwischen Apoptose und Nekroptose sind in Abbildung 6 dargestellt.

RIPK3 ist somit der entscheidende Faktor, der in erster Linie an der Nekroptose beteiligt ist.

Pyroptose

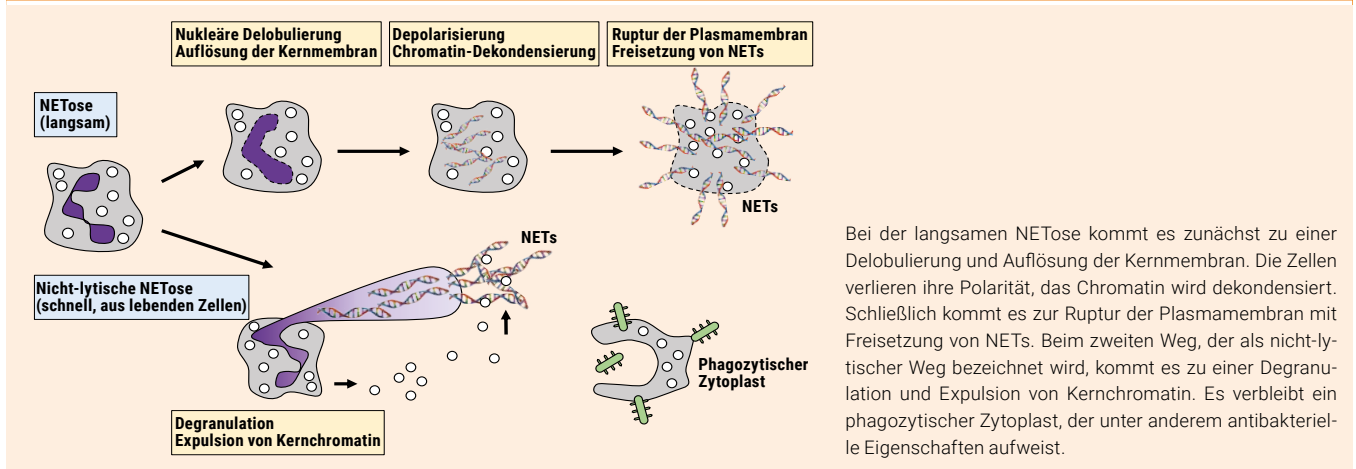
Die Abläufe bei der Pyroptose zeigen eine Involvierung des NLRP3-Inflamasoms, über welches proinflammatorisches IL-1 β gebildet werden kann. Zum eigentlichen Zelltod kommt es über Aktivierung der Caspase 11 und aktiviertes Gasdermin D (Abb. 7).

Die Pyroptose ist somit ein Vorgang, der zur Inflammation beitragen kann.

NETose

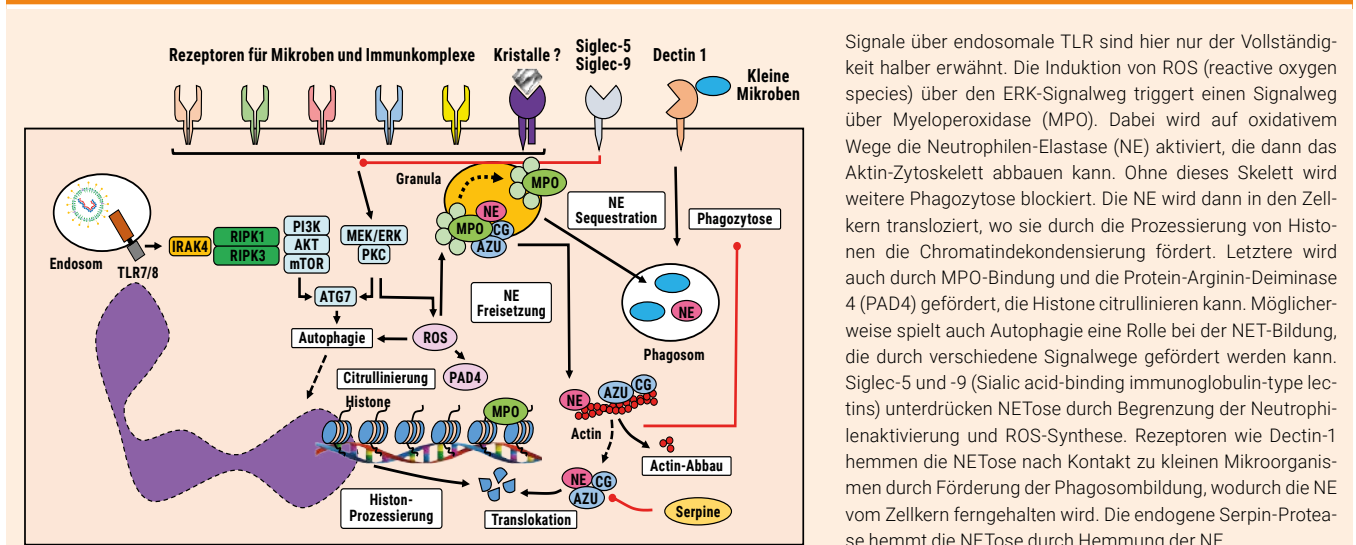
Die NETose wurde 2007 erstmals von der Arbeitsgruppe um Arturo Zychlinsky beschrieben [3]. Die Abläufe sind in Abbildung 8 dargestellt.

Abbildung 8. Bildung von NETs (Neutrophil extracellular traps) auf zwei verschiedenen Wegen



modifiziert nach [13]

Abbildung 9. Regulation der NETose



ATG7: autophagy-related protein 7
 AZU: azurophilic granule
 CG: cathepsin G
 IRAK: IL-1 receptor-associated kinase

MEK: MAPK/ERK kinase
 mTOR: mechanistic target of rapamycin
 PI3K: phosphoinositide 3-kinase
 PKC: protein kinase C

RIPK1: receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1
 TLR: Toll-like receptor

modifiziert nach [13]

Die NETose wird durch unterschiedliche Trigger ausgelöst. Sie läuft aber nicht unkontrolliert ab, sondern wird durch bestimmte Faktoren reguliert. Dies ist in Abbildung 9 verdeutlicht. Die NETose ist somit das einzige „Todesprogramm“, bei dem es zu einer Freisetzung der NETs kommt.

Klinische Relevanz

Derzeit hat die Apoptose für den Kliniker die größte Bedeutung, da verschiedene angeborene Immundefekte zum ALPS (autoimmunes lymphoproliferatives Syndrom) führen können [2, 9]. So sind Keimbahndefekte bei Fas, Fas-Ligand, FADD und Caspase 10* bekannt. Konsequenzen dieser Defekte sind Autoimmunzytopenien, weitere Autoimmunmanifestationen, Lymphadenopathie, Splenomegalie und ein erhöhtes Lymphomrisiko. Ein Defekt bei Caspase 8 hat sich bisher nicht als ALPS, sondern als chronisch-entzündliche Darmerkrankung gezeigt. Bei der Immunphänotypisierung fallen im klassischen Fall vermehrte T-Zell-Rezeptor-positive, aber CD4- und CD8-doppelt-negative T-Zellen auf. Bei allen Defekten besteht die Unfähigkeit, bestimmte Zielzellen, z. B. pathogene autoimmune Zellen, mittels Apoptose zu eliminieren. Das klinische Bild des ALPS kann anderen Immundefekten sehr ähnlich sein, sodass bei unklarer Diagnose immer differenzialdiagnostische Überlegungen angestellt werden sollten [4].

Auch bei der Nekroptose wurde ein Defekt beschrieben. Liu et al. berichteten 2023 über eine compoundheterozygote Mutation bei RIPK3 (Receptor-interacting protein kinase 3) bei einem Patienten mit dem selektiven Problem einer Herpes-simplex-Enzephalitis [7]. Diverse Zellen, insbesondere aber aus induzierten pluri-

potenten Stammzellen generierte neuronale Zellen, zeigten nach geeigneter Stimulation Störungen von Apoptose und Nekroptose in Verbindung mit gesteigelter Vermehrung von HSV-1. Dies zeigt, wie wichtig der programmierte Zelltod bei Virus-infizierten Zellen ist.

Selektive genetische Störungen der Pyroptose wurden bisher nicht beschrieben. Vermutlich führte der Defekt bei TRIF [14] zu einer solchen Störung, dies wurde aber bisher nicht experimentell bestätigt.

Hinsichtlich der NETose konnten Fuchs et al. zeigen, dass die Bildung der NETs vom oxidativen Stoffwechsel der Granulozyten abhängt, bei dem ROS (reactive oxygen species wie Superoxidanionen, Hydroxylradikale oder H₂O₂) gebildet werden [3]. Daher kommt es bei Patientinnen und Patienten mit den verschiedenen Formen der septischen Granulomatose (CGD), bei denen keine ROS gebildet werden, zu einer Störung des Zelltodes und der Bildung

von NETs. Dies gilt auch für Patientinnen und Patienten mit komplettem Mangel an Myeloperoxidase [10] oder Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase [15]. Auch bei verschiedenen Varianten der schweren kongenitalen Neutropenie sind Störungen der NET-Bildung beschrieben.

Fazit

Unser Organismus verfügt über verschiedene Programme, über die Zellen abgetötet werden können. Störungen dieser Programme haben klinische Relevanz, wobei derzeit vermutlich die volle Bedeutung dieser Vorgänge noch unzureichend beurteilt werden kann.

Prof. Dr. med. Volker Wahn

Charité Campus Virchow
Klinik m. S. Pädiatrische Pneumologie
und Immunologie
13353 Berlin
volker.wahn@charite.de

Literatur

- Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science* 1998; 281(5381): 1305–8
- Consonni F, Gambineri E, Favre C. ALPS, FAS, and beyond: from inborn errors of immunity to acquired immunodeficiencies. *Ann Hematol* 2022; 101(3): 469–484
- Fuchs TA, Abed U, Goosmann C et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol* 2007; 176(2): 231–41
- Hägele P, Staus P, Scheible R et al.; ALPID study group. Diagnostic evaluation of paediatric autoimmune lymphoproliferative immunodeficiencies (ALPID): a prospective cohort study. *Lancet Haematol* 2024; 11(2): e114–e126
- Kesavardhana S, Malireddi RKS, Kanneganti TD. Caspases in Cell Death, Inflammation, and Pyroptosis. *Annu Rev Immunol* 2020; 38: 567–595
- Lemke G. How macrophages deal with death. *Nat Rev Immunol* 2019; 19(9): 539–549
- Liu Z, Garcia Reino EJ, Harschnitz O et al. Encephalitis and poor neuronal death-mediated control of herpes simplex virus in human inherited RIPK3 deficiency. *Sci Immunol* 2023; 8(82): eade2860
- Man SM, Kanneganti TD. Converging roles of caspases in inflammasome activation, cell death and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2016; 16(1): 7–21
- Matson DR, Yang DT. Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome: An Overview. *Arch Pathol Lab Med* 2020; 144(2): 245–251
- Metzler KD, Fuchs TA, Nauseef WM et al. Myeloperoxidase is required for neutrophil extracellular trap formation: implications for innate immunity. *Blood* 2011; 117(3): 953–9
- Nagata S, Tanaka M. Programmed cell death and the immune system. *Nat Rev Immunol* 2017; 17(5): 333–340
- Nagata S. Apoptosis and Clearance of Apoptotic Cells. *Annu. Rev. Immunol* 2018; 36: 489–517
- Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol* 2018; 18(2): 134–147
- Sancho-Shimizu V, Pérez de Diego R, Lorenzo L et al. Herpes simplex encephalitis in children with autosomal recessive and dominant TRIF deficiency. *J Clin Invest* 2011; 121(12): 4889–902
- Siler U, Romao S, Tejera E et al. Severe glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency leads to susceptibility to infection and absent NETosis. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127(5): 1243–52.e7
- Tummers B, Green DR. Mechanisms of TNF-independent RIPK3-mediated cell death. *Biochem J* 2022; 479(19): 2049–2062

* Eine nach Erstellung des Manuskripts **erschienene Arbeit** stellt allerdings die Rolle des Caspase 10 Defekts als Ursache für ALPS infrage.