

Aus der Hautklinik der Universität des Saarlandes Homburg/Saar, Deutschland
(Direktor: Prof. Dr. F. Nödl).

UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAGE DER IMMUNOTOLERANZ GEGENÜBER DINITROCHLORBENZOL¹

Von

A. SCHIMPF & G. FILIPP

An Hand tierexperimenteller Untersuchungen sind wir der Frage nachgegangen, inwieweit eine paranatale Vorbehandlung mit bekannten ekzematogenen Allergenen eine erworbene immunologische Toleranz gegenüber derselben Substanz im erwachsenen Alter nach sich zieht. Als Allergen zur Auslösung der ekzematösen Sensibilisierung haben wir Dinitrochlorbenzol (DNCB) verwandt. Die Versuche selbst wurden am geeignetsten Sensibilisierungstier (*H. Storck*) – dem Meerschweinchen – durchgeführt. –

Den Untersuchungen liegt das Phänomen der Immunotoleranz (*Traub* 1938, *Owen* 1945, *Burnet et alii* 1949, *Billingham, Brent & Medawar* 1953 u. a.) zugrunde. *Traub* stellte fest, dass Mäuse, die in utero mit dem, die lymphocytäre Choriomeningitis verursachenden Virus geimpft worden waren, sich später zur Bildung spezifischer neutralisierender und komplementbindender Antikörper als unfähig erwiesen. – Auf Grund tierexperimenteller Untersuchungen konnte *Owen* zeigen, dass im Falle einer pränatalen oder früh-postnatalen Antigenexposition die so vorbehandelten Tiere nicht imstande sind, Antikörper gegenüber dem homologen Antigen zu bilden. Nach *Burnet & Fenner* soll die Körperzelle im Besitz einer begrenzten Anzahl wiedererkennbarer „Selbstmarkierungsbestandteile“ sein. Dabei soll sich die Fähigkeit zur Erkennung des eigenen Zelltyps im embryonalen und früh-postnatalen Leben entwickeln bzw. auftreten. – Nach *Billingham, Brent & Medawar* steht die erworbene Immunotoleranz im

¹ Auszugsweise anlässlich des V. Internationalen Kongresses für Allergologie, Madrid, 10.-16. 10. 1964, vorgetragen.

Gegensatz zur erworbenen Immunität. Sie entspricht einem Zustand, in dem Säugetiere und Vögel in keiner Weise oder nur in beschränktem Masse die Fähigkeit besitzen, den Stimulus jener Antigene, deren Einwirkung sie im fötalen oder paranatalen Leben ausgesetzt worden waren, immunbiologisch zu beantworten.

Durch eine solche Vorbehandlung in der paranatalen Lebensperiode könnte demzufolge der Zustand der sog. Immunotoleranz herbeigeführt werden. Die Präparierung des Organismus müsste dabei aber entweder im embryonalen Zustand (Behandlung des trächtigen Tieres) oder postnatal in den ersten Lebenstagen – also jeweils in der Periode der immunbiologischen Unreife – erfolgen. Der so vorbehandelte Organismus ist dann ausserstande, im erwachsenen Alter Antikörper gegen das homologe Antigen zu bilden oder diese Fähigkeit ist überzeugend herabgesetzt. Für das Phänomen der Immunotoleranz ist eine weitgehende Spezifität kennzeichnend. Die Unfähigkeit zur Antikörperbildung bezieht sich aber nur auf das Antigen, mit dem die paranatale Präparierung vorgenommen wurde. Eindeutig sind die Ergebnisse bezüglich der Eiweissantigene, Polysaccharide, Blutzellen und Transplantate, weniger eindeutig bezüglich der Bakterien und Viren.

Einer von uns (*Filipp*) wies nach, dass das Phänomen der Immunotoleranz auch für anaphylaktisch-allergische Vorgänge seine volle Gültigkeit besitzt. Er war imstande, durch paranatal erfolgte Antigenverabreichung die spätere Sensibilisierung der Meerschweinchen zu blockieren. Bei neonatal durchgeführter Vorbehandlung von Kaninchen konnte er zeigen, dass bei denselben eine Störung der Präzipitinbildung im erwachsenen Alter nachweisbar war, die in überzeugender Reduktion des Arthus-Phänomens zum Ausdruck kam. Diese Feststellungen wurden neuerdings mittels des inhalativen Schocks und der Schultz-Dale'schen Versuchsgestaltung am Meerschweinchen und an paranatal vorpräparierten Mäusen und Ratten bestätigt. *Filipp* schlug für dieses Phänomen die Bezeichnung Allergotoleranz vor.

Experimentelle Untersuchungen dieser Art führten wir erstmalig vor 1½ Jahren zunächst an einer kleinen Tierzahl (10 Versuchs-, 10 Kontrolltiere) durch. – Da bekanntlich die ekzematöse Sensibilisierung – im Gegensatz zur anaphylaktischen Sensibilisierung – am sichersten bei epikutaner Applikation des Allergens in obligat toxischer Konzentration zustande kommt, wurde das Allergen (DNCB) bei diesen und auch bei den späteren Versuchen ausschliesslich epikutan appliziert. – In der Periode der immunbiologischen Unreife erfolgte bei den Versuchstieren innerhalb von 24 Stunden nach der Geburt und am 2. und 3. Lebenstag eine Auftragung einer 5 prozentigen Lösung von DNCB in Aceton (Nackenregion).

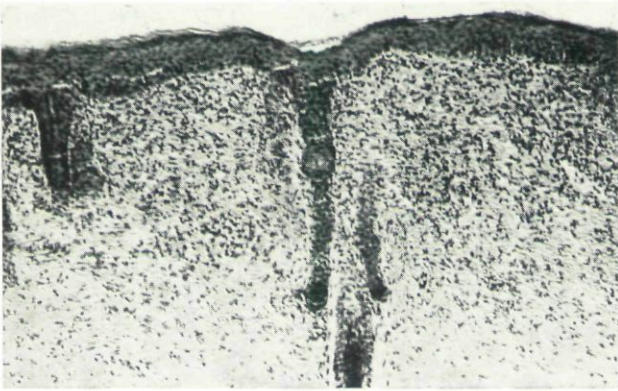


Abb. 1.

48 Stunden altes DNCB-Kontaktekzem des Meerschweinchens. Angedeutete (artefizielle?) Spaltbildung intraepithelial. Gefrierschnitt, HE 10:1.

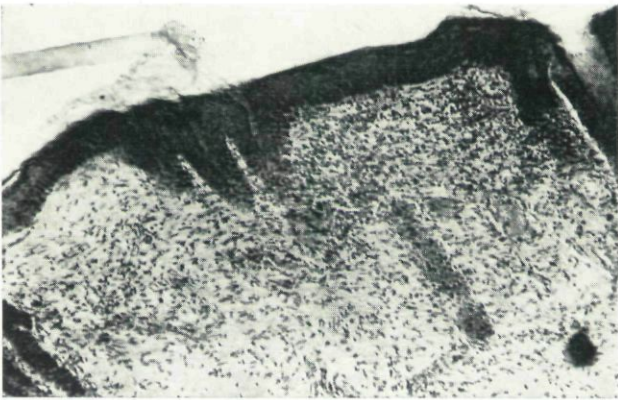


Abb. 2.

s. Abb. 1-2. Perifollikuläres, auf das Follikelepithel übergreifendes, dichtes Infiltrat mit spongiotischen Veränderungen im Bereich des Follikelepithels. HE 10:1.

Im erwachsenen Alter von 3 Monaten wurde bei den 10 Versuchstieren und bei nicht postnatal vorbehandelten, gesondert gehaltenen 10 Kontrolltieren derselben Zucht die Sensibilisierung (Phase des „Primärkontaktes“) mit 5 prozentigem DNCB durchgeführt (Flankenregion). – Nach Ablauf der

Phase der Inkubationsperiode (10 Tage) wurde der Eintritt der Phase der generalisierten Sensibilisierung durch die Erfolgsreaktion (Test) geprüft (0,9 promilliges DNCB, andere Flanke). Dabei wurden Konzentrationen, Volumen der Lösung und Ort der Applikation stets konstant gehalten und entsprachen der Technik von *Frey & Wenk*. — Bei den 10 Versuchstieren konnte makroskopisch nur eine zweifelhafte bis allenfalls schwach positive ekzematöse Erfolgsreaktion nachgewiesen werden. Das histologische Substrat zeigte jedoch sicher ekzematöse Veränderungen. Es fand sich eine geringe Akanthose, eine angedeutete (artefizielle?) intraepidermale Spaltbildung (Abb. 1), ein geringes interzelluläres Oedem der Epidermis, eine mässige Erweiterung der papillaren und subpapillaren Gefässe, ein mässiges bis dichtes, z. T. bandförmiges, subepidermales Infiltrat, welches z. T. perifollikulär spongiotische Veränderungen aufwies (Abb. 2). Die makroskopisch nur zweifelhafte bis schwach positive Erfolgsreaktion (s.o.) machte es wahrscheinlich, dass bei den Versuchstieren eine Beeinflussung der Sensibilisierung infolge Behinderung der Erfolgsreaktion stattfand.

Bei den 10 Kontrolltieren hingegen war makroskopisch und histologisch das typische Bild des DNCB-Kontaktekzems nachweisbar. Feingeweblich war die Epidermis hier von einer kernlosen, z. T. kompakten, stellenweise abgehobenen Hornschicht bedeckt. Der Epithelverband war mässig akanthotisch und zeigte Auflockerung mit intrazellulärer Vakuolenbildung und intra- und interzellulärem Oedem. Die Basalschicht war stärker aufgelockert und infolge des eindringenden Infiltrates fand sich z. T. eine verwaschene Epidermis-Cutisgrenze. Das Corium war insgesamt oedematös, die subepidermalen und perifollikulären Gefässe stark dilatiert, und es fand sich subepithelial teils ein umschriebenes, perivaskuläres oder perifollikuläres diffuses Rundzelleninfiltrat.

Da diese Ergebnisse einer Überprüfung bedurften, wurden die Versuche an einer grösseren Tierzahl (100 Meerschweinchen) und unter besonderen Bedingungen weitergeführt. — Bei 70 von 100 aus der gleichen Zucht stammenden Meer-

schweinchen wurde unter gleichen Bedingungen wie zuvor erstmalig innerhalb von 24 Stunden nach der Geburt und nachfolgend am 2. und 3. Lebenstag eine gleiche Hautpartie (Nackenregion) mit einer 5 prozentigen DNCB-Acetonlösung bepinselt (postnatale Vorbehandlung). Die restlichen 30 Tiere blieben als Kontrollen unbehandelt und waren gesondert untergebracht. — Im erwachsenen Alter von 6–12 Wochen wurde dann im Bereich der beiderseitigen Flankenregion bei allen 100 Tieren die Sensibilisierung (5 prozentiges DNCB in Aceton) und die Erfolgsreaktion (0,9 promilliges DNCB in Aceton) durchgeführt. Um optimale Versuchsbedingungen zu erzielen, wurde erst am 10. Tage nach der Sensibilisierung die Erfolgsreaktion zur Feststellung einer Veränderung der Reaktionslage der Haut (Eintritt der generalisierten Sensibilisierung) vorgenommen. Die Reaktionen wurden am 11. und 12. Tage (nach 24 und 48 Stunden) abgelesen. Am 12. Tage (48 Stunden nach der Erfolgsreaktion) wurden Biopsien der getesteten Haut im Flankenbereich (Applikation der Erfolgsreaktion) und der nicht getesteten (normalen) Haut (Rücken) mit der Schere entnommen und histologisch untersucht. Die histologische Verifizierung der Testergebnisse hielten wir aus zwei Gründen für dringend angezeigt. Einmal kompliziert sich die Beurteilung des Testergebnisses, wenn statt der qualitativen Ablesung (positiv oder negativ) eine quantitative (fragliches, minimales, mässiges, beträchtliches, maximales Erythem, s. *Rosenthal & Baer*) erfolgt. Andererseits machten es die zuvor beobachteten Ergebnisse (mögliche makroskopische Hemmung der Erfolgsreaktion) erforderlich, dass eine histologische Untersuchung durchgeführt wurde.

Vor Besprechung weiterer Ergebnisse sei auf die Ausführungen von *Harber, Rosenthal & Baer* (1961) und *Rosenthal & Baer* (1963) hingewiesen, die über „aktiv erworbene Toleranz gegenüber DNCB“ berichteten. *Harber* u. Mitarb. behandelten schwangere Meerschweinchen einmal oder wöchentlich mit intraperitonealer Injektion von 0,1 ml einer 5 prozentigen DNCB-Lösung in Aceton. Eine gleiche Anzahl von Kontrolltieren erhielt unter gleichen Bedingungen nur Aceton injiziert. Die Nachkommen dieser Tiere wurden im Alter von 30 Tagen mit 0,05 ml einer 2 prozentigen DNCB-Lösung in absolutem Alkohol in der

Nackengegend sensibilisiert. 24 Tage später wurde mit DNCB (0,2 0,09, 0,05 Prozent) in Olivenöl und mit Olivenöl allein getestet und 24 Stunden danach die Testreaktion (Erythemgrad 0-4) makroskopisch beurteilt. Die Verff. stellten fest, dass die Empfindlichkeit gegenüber der allergischen Kontaktsensibilisierung signifikant bei den Nachkommen reduziert war, deren Muttertier in der Schwangerschaft intraperitoneal mit DNCB vorbehandelt war. Diese aktiv erworbene Toleranz scheint nach Verff. spezifisch zu sein. – *Rosenthal & Baer* setzten diese Untersuchungen fort. Das Allergen (DNCB) wurde von den Verff. bei neugeborenen Meerschweinchen intraperitoneal, subkutan und epikutan appliziert. In diesem Zusammenhang kann nur auf die Ergebnisse der epikutanen Anwendung eingegangen werden. Von den Verff. wurden Meerschweinchen postnatal insgesamt 4 Tage mit 2 prozentigen DNCB in absolutem Äthylalkohol in der Nackenregion sensibilisiert (postnatale Sensibilisierung). Kontrolltiere wurden 4 Tage lang nur mit absolutem Alkohol bepinselt. – Von 40 Versuchstieren verstarben insgesamt 24, für die Tests standen somit nur 16 Versuchstiere zur Verfügung. – Von 32 Kontrolltieren verstarben 14, so dass nur bei 18 Kontrolltieren die Tests später durchgeführt werden konnten. – Im Alter von 4 Wochen wurden alle Tiere an 4 aufeinanderfolgenden Tagen jeweils mit 2 prozentigem DNCB in absolutem Alkohol sensibilisiert. – 24 Tage später erfolgte mit Verdünnung von DNCB in Olivenöl (0,2 Prozent, 0,09 Prozent, 0,05 Prozent, 0 Prozent) die Durchführung der Erfolgsreaktion. Die Ablesung der Tests wurde nach 24 Stunden vorgenommen. Registriert wurde: kein Erythem (E.) = 0, fragliches E. = + 0,5 minimales E. = + 1,0, mässiges E. = + 2,0, beträchtliches E. = + 3,0 und maximales E. = 4,0 – Wie aus der Tab. 3 hervorgeht, waren die quantitativen Testergebnisse bei den Versuchstieren (16) eher höher als niedriger im Vergleich zu den Kontrolltieren (18).

Während bei den epikutan sensibilisierten Tieren somit keine „Tendenz einer abgeschwächten Sensibilisierung“ nachweisbar war, konnte von den Verff. eine solche nach intraperitonealer (18 Versuchs-, 13 Kontrolltiere) und nach subkutaner (12 Versuchs-, 10 Kontrolltiere) Applikation von DNCB beobachtet werden. –

Die eigenen tierexperimentellen Untersuchungen erbrachten folgende Ergebnisse:

Während wir nach Durchführung der postnatalen Vorbehandlung (5 Prozent DNCB) am 1. bis 3. Lebenstag bei allen Versuchstieren lediglich das Auftreten der üblichen primärtoxischen Läsion beobachteten, reagierten etwa die Hälfte der 70 Versuchstiere nach Sensibilisierung im Erwachsenenalter (6–12 Wochen post partum) auf die gleiche Allergenlösung (5 Prozent DNCB) mit heftigen Reaktionen in Form tiefer Ätzwunden. Bei dem Rest der Versuchstiere und allen

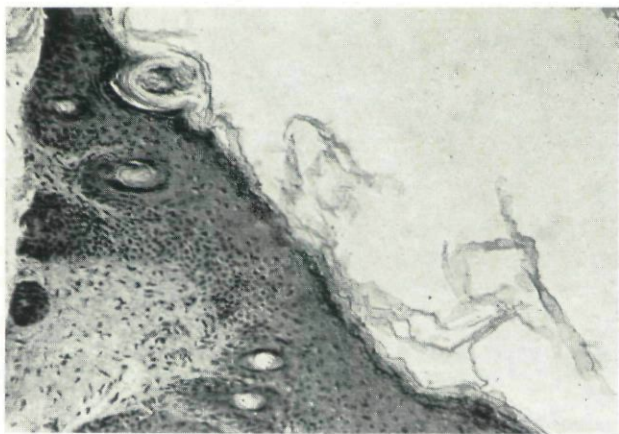


Abb. 3.

48 Stunden altes DNCB-Kontaktekzem (Sensibilisierung mit 5 Prozent DNCB in Aceton, 10 Tage später Erfolgsreaktion mit 0,9 Prozent DNCB in Aceton, 48 Std. n. Erfolgsreaktion Biopsie). – Invasion von Rundzellen in die spongiotisch aufgelockerte Epidermis. Gefrierschnitt, HE 45:1.

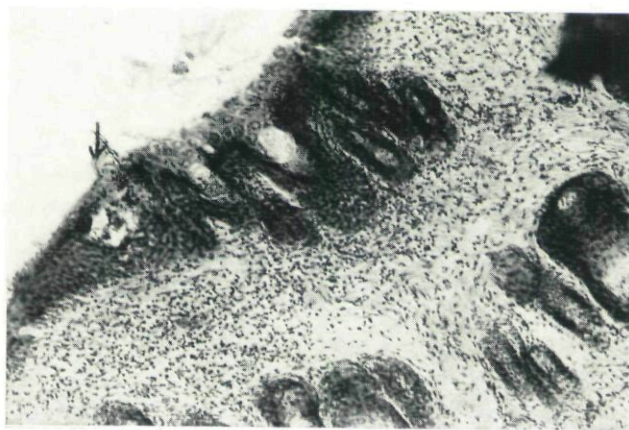


Abb. 4.

s. Abb. 3. – Spongiose und Bläschenbildung im Bereich der Epidermis. HE 45:1.

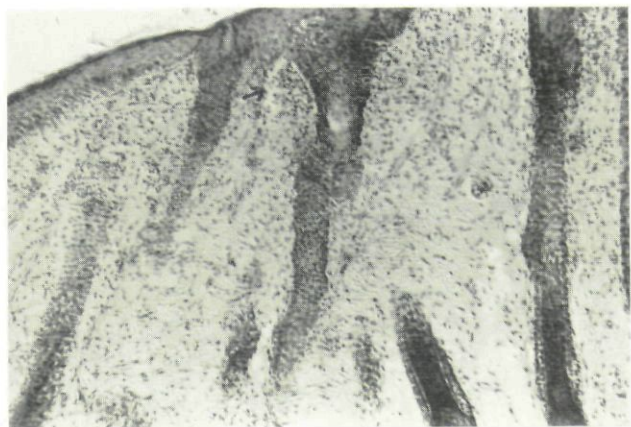


Abb. 5.

s. Abb. 3-4. - Spongiotische Auflockerung der Epidermis, HE 45: 1.



Abb. 6.

s. Abb. 3-5. - Infolge Konfluenz der Vakuolen im Bereich der unteren Epidermis und subepidermal subepitheliale Bläschenbildung, HE 45: 1.

Kontrolltieren kam es hingegen wieder nur zur Ausbildung der bekannten primär-toxischen Läsion.

Die zur Feststellung einer Veränderung der Reaktionslage der Haut (Eintritt der generalisierten Sensibilisierung) bei Versuchs- und Kontrolltieren vorgenommene Erfolgsreaktion

(mit 0,9 promilligen DNCB) zeigte demgegenüber konstante Testergebnisse, d.h. sowohl bei den Versuchs- als auch bei den Kontrolltieren schwankte die Testreaktion zwischen schwachem und ausgeprägtem Erythem. Ein signifikanter Unterschied der makroskopischen Reaktion (bei Versuchs- und Kontrolltieren) liess sich somit nicht nachweisen.

Die mikroskopischen Befunde der Biopsien der getesteten Haut (Erfolgsreaktion) zeigten, dass in jedem Fall feingeweblich eine sicher ekzematöse Reaktion feststellbar war. Die Ausprägung der histologisch nachweisbaren Reaktion entsprach so gut wie stets der Intensität der makroskopischen Reaktion. – Auch bei Durchsicht mehrerer Schnitte einer gleichen Biopsie fanden sich histologisch sowohl bei den Versuchs-, als auch bei den Kontrolltieren keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Reaktionsstärke der ekzematösen Veränderungen im Corium- und Epidermisbereich. Im einzelnen liessen sich bei den 70 Versuchstieren feingeweblich typische Veränderungen des kontaktallergischen Ekzems wie Invasion von Rundzellen in die spongiosisch aufgelockerte Epidermis (Abb. 3), Spongiose und Bläschenbildung im Epidermisbereich (Abb. 4), spongiosische Auflockerung der Epidermis (Abb. 5) und durch Konfluenz von Vakuolen im Bereich der unteren Epidermis und subepidermal entstandene subepitheliale Bläschenbildung (Abb. 6) nachweisen.

Unsere Ergebnisse bestätigen damit die von *Rosenthal & Baer* erhobenen makroskopischen Befunde bei „topical Application“ von DNCB bei neugeborenen Meerschweinchen. Darüber hinaus konnten wir auch bei histologischer Untersuchung der getesteten Haut (Erfolgsreaktion) keine Kriterien finden, die auf eine unterschiedlich-feingewebliche Ausprägung der ekzematösen Reaktion bei Versuchs- und Kontrolltieren hindeuteten.

ZUSAMMENFASSUNG

Eine paranatale Vorbehandlung mit einem bekannten ekzematogenen Allergen – in unserem Falle mit DNCB – bewirkt, wie die eigenen Untersuchungen in Übereinstimmung mit

Rosenthal & Baer beinhalten, bei epikutaner Applikation keine Abschwächung der Sensibilisierung und/oder der Erfolgsreaktion im erwachsenen Alter im Sinne der Immuno- (Allergo-) Toleranz. Sowohl makroskopisch als auch insbesondere feingeweblich liessen sich keine Kennzeichen nachweisen, die auf eine unterschiedliche Akuität des histologischen Substrates „Kontaktekzem“ bei Kontroll- und Versuchstieren hingewiesen hätten.

LITERATUR

- Billingham, R. E., Brent, L. & Medawar, P. R.*: Phil. Trans. of Roy. Soc. London, Series B 239, 357, 1956, Nature 172, 603, 1953.
Burnet, F. M. & Fenner, F.: Heredity 2, 289, 1948.
 The Production of Antibodies, Melbourne: 1949.
Filipp, G.: Acta allergol. 17, 1, 1962, hier ausführliche Literatur. — 17, 505, 1963.
Frey, J. R. & Wenk, P.: Dermatologica (Basel) 112, 265, 1956.
Harber, L. C., Rosenthal, S. A. & Baer, R. L.: J. Invest. Derm. 37, 241, 1961.
Owen, R. D.: Science 102, 400, 1945.
Rosenthal, S. A. & Baer, R. L.: J. Invest. Derm. 41, 351, 1963.
Storck, H.: Das experimentelle Ekzem. In: Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten, Ergänzungswerk, hrsg. von G. Miescher u. H. Storck, Bd. II/1, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962.
Traub, E.: J. exper. Med. 68, 229, 1938.

This document is a scanned copy of a printed document. No warranty is given about the accuracy of the copy. Users should refer to the original published version of the material.