

Primäre CD8⁺-T-Zell-Antwort bei Atemwegsinfektionen

Zellvermittelte Immunität bei Virusinfektionen (Nobel-Vortrag)**

Peter C. Doherty*

Einleitung

Viele Schlüsselkonzepte zur Beschreibung der Immunität sind das Resultat von Studien, die die Kontrolle von Virusinfektionen zum Ziel hatten. Zum Gedenken an den 200sten Jahrestag der ersten Impfung mit dem Kuhpockenvirus, die Edward Jenner 1796 an James Phipps durchführte, sowie der anschließenden Impfung mit dem Windpockenvirus wurde 1996 zum „Jahr der Impfstoffe“ erklärt. Seit der Jahrhundertwende gewann man immer mehr Erkenntnisse über die Natur von Viren und die Mechanismen, wie sie mit Säugetierzellen wechselwirken. Gleichzeitig entwickelten sich unsere Konzepte der Immunität, ausgehend von der Behandlung Joseph Meissners mit „gealterten“ Tollwutviren durch Pasteur. Max Theiler erhielt für den antikörpervermittelten Schutz durch abgeschwächte, lebende Gelbfiebertviren 1951 den Nobel-Preis. Als ich 1962 meinen Abschluß an der University of Queensland Veterinary School machte, war die Art und Weise der Virusneutralisation^[1] das wohl Aufregendste auf dem Gebiet der Immunologie; dies Thema wird noch heute mit der Technologie der monoklonalen Antikörper (mAb, monoclonal antibody), die auf Georges Köhler und César Milstein (Nobel-Preis 1985) zurückgeht, bearbeitet. Die kristallographische Aufklärung der Struktur von Komplexen aus monoklonalen Antikörpern und Influenza-viren- Neuraminidase sowie Neuraminidase-Varianten, die an mAbs binden, beweist, daß Immunglobulin (Ig)-Moleküle normalerweise die Raumstruktur (Tertiärstruktur) von Proteinen erkennen und an diese binden.^[2]

Mit dem Nobel-Preis 1996 wird unsere Entdeckung^[3–6] gewürdigt, die wir mit Experimenten an lymphocytären Choriomeningitis-Viren (LCMV) machten. Wir erkannten, daß die T-Zell-vermittelte Immunität (CMI, cell mediated immunity) völlig verschieden ist von der Antikörper-vermittelten Immunität. Die Erkennung der infolge einer Infektion modifizierten Zelloberflächen-Glycoproteine des Haupt-Histokompatibilitätskomplexes (MHC, major histocompatibility complex) steht dabei im Vordergrund. Diese Entdeckungen sollen hier im histo-

rischen Zusammenhang vorgestellt werden; darüber hinaus werden einige Aspekte der aktuellen Forschung zur viralen Immunität und Pathologie diskutiert.

Die „Australische Schule“ der viralen Pathogenese und Immunität

Die Stärken in der Virologie und Immunologie an der John Curtin School of Medical Research (JCSMR), an der wir unsere LCMV-Experimente durchführten, waren die direkte Folge der von F. M. (Sir Mac) Burnet in Australien bearbeiteten Themengebiete. Über mehr als zwanzig Jahre baute Sir Mac das „Walter und Eliza Hall Institute“ (WEHI) in Melbourne zu einem internationalen Zentrum der Virus-, insbesondere der Influenza-Forschung aus. Ende der 40er Jahre war Frank Fenner der einzige, der eine andere Viruserkrankung bearbeitete; Burnets Vorschlag folgend, untersuchte er die Epidemiologie und Pathogenese von *Ectromelia* (Mauspocken). Auf Burnets Erkenntnissen aufbauend, daß *Ectromelia* mit Hilfe eines Pocken-Assays auf Hühner-Chorioallantois-Membran titriert werden konnte, führte Fenner quantitative Untersuchungen zur Verteilung des Virus in einer Reihe von Geweben durch.^[7] Er kam zu dem Schluß, daß das Virus zunächst an den Impfstellen in der Haut, und anschließend in den regionalen Lymphknoten replizierte und sich über die Leber und Milz weiter ausbreitete und zurück auf der Haut einen Windpocken-ähnlichen Ausschlag hervorrief. Er bemerkte auch, daß eine Art „verzögerte“ Allergie noch vor der Bildung von Serum-Antikörpern auftrat. 1949 wurde Fenner an der JCSMR der Australian National University Leiter des Mikrobiologie-Departments, das hauptsächlich aufgrund der Initiative von Sir Howard (später Lord) Florey (Nobel-Preis 1945) gerade gegründet wurde. Fenner etablierte ein äußerst leistungsfähiges Forschungszentrum der Virologie.

1957 verließ Burnet die Virologie, nachdem er die klonale Selektionstheorie formuliert hatte,^[8] und konzentrierte die Arbeiten am WEHI nun auf immunologische Grundlagenforschung. Dieser Schwerpunkt wurde von seinem Protegé G. J. V. Nossal konsequent weiterverfolgt. Nossal gewann J. F. A. P. Miller, der ein Schwerpunktprogramm im Bereich der T-Zell-Immunität etablierte, welches lokal wie international entscheidenden Einfluß haben sollte. Einige der Virologen vom WEHI wechselten in Fenners Abteilung nach Canberra. G. L. Ada, einer der wenigen, die in Melbourne zurückblieben, wechselte schließlich zur Immunologie. Gordon Ada ging 1968 nach Can-

[*] Prof. P. C. Doherty
Department of Immunology
St. Jude Children's Research Hospital
332 North Lauderdale, Memphis, TN 38104 (USA)
Telefax: Int. + 901/495-3107

[**] Copyright © The Nobel Foundation 1997. – Wir danken der Nobel-Stiftung, Stockholm, für die Genehmigung zum Druck einer deutschen Fassung des Vortrages.

berra, wo er Fenners Platz einnahm, der seinerseits Direktor an der JCSMR wurde. Als ich dazu stieß, wurde in der Mikrobiologie in Canberra viel Immunologie betrieben, und es gab eine fruchtbare Zusammenarbeit zwischen den Immunologen und den aus der Fenner-Ära zurückgebliebenen Virologen.

Fenners Ectromelia-Modell war an der JCSMR in zwei Richtungen weiterverfolgt worden, die unsere Entdeckungen beeinflussen sollten. Erstens ging es um die Verwendung der Fluoreszenz-Mikroskopie, die C. A. Mims intensiv nutzte, um Muster für das Viruswachstum in verschiedenen Organbereichen zu definieren.^[9] Er trug damit dazu bei, das Forschungsgebiet der viralen Pathogenese am Ganztier-Modell während der 60er Jahre am Leben zu erhalten, als die meisten Virologen Ender, Weller und Robbins (Nobel-Preis 1954) folgend ihre Aufmerksamkeit den In-vitro-Gewebekulturen widmeten. Fenners letzter Beitrag zur experimentellen Virus-Immunologie war die Berufung R. V. Blandens vom Trudeau Institute, wo er mit Georges Mackaness (einem Schüler Floreys und vormals Wissenschaftler der JCSMR) an CMI bei bakteriellen Infektionen arbeitete^[10]. Bob Blanden wandte die Verfahren an, die er mit Mackaness für das Ectromelia-Modell entwickelt hatte. Er bediente sich dabei sowohl adoptiver Transferexperimente als auch der Reduzierung mit Anti-Thymocyten-Serum, um die entscheidende Rolle der T-Lymphocyten bei der Kontrolle von Infektionen zu verdeutlichen.^[11–13]

Ich verfolgte über viele Jahre hinweg Mims Publikationen und verließ Edinburgh Ende 1971, um nach Australien zurückzukehren und mit ihm zu arbeiten. Warnend setzte er mich davon in Kenntnis, daß er möglicherweise einen Lehrstuhl in der Mikrobiologie in London annehmen würde, und tatsächlich verließ er Australien noch vor Ende 1972. Ich erbte sozusagen sein Labor, seinen technischen Mitarbeiter (Gail Essery) und das LCMV-Modell, das einige Jahre zuvor von Fritz Lehmann-Grube mit nach Canberra gebracht worden war. 1973 kam dann Rolf Zinkernagel, um mit Blanden über CMI im Zusammenhang mit Salmonellose zu arbeiten. Gordon Ada setzte aus Platzgründen Rolf zusammen mit mir in ein Labor; dies war der Anfang unserer Zusammenarbeit. Rolf verwendete später unsere experimentellen Daten in seiner Doktorarbeit, und obwohl ich ihm beim Schreiben half, standen wir zueinander immer in einer kollegialen und nicht einer Lehrer-Student-Beziehung.

Frühe Experimente mit LCMV und die Entdeckung der MHC-Restriktion

Zunächst richtete ich mein Augenmerk beim LCMV-Modell darauf, die Ansätze der zeitgenössischen T-Zell-Immunologie mit einer Quantifizierung der Entzündungspathologie^[14] zu verbinden. Ich zählte die Zellen in der Cerebrospinal-Flüssigkeit (CSF) von Mäusen mit einer CSF-Zapftechnik, die ich bei R. I. Carp gelernt hatte.^[15] Dies erwies sich als ein äußerst effizienter Ansatz (Abb. 2), der die ursprünglich von W. P. Rowe et al. und J. E. Hotchin et al. sowie später von D. H. Gilden, G. A. Cole und N. Nathanson aufgestellte These erhärtete, daß es sich bei klinischer LCM um eine immunpathologische Krankheit handelt.^[16–18] Das visuell am meisten befriedigende Experiment zu dieser Zeit war die Verwendung von Evans-Blau-Injektionen, um zu zeigen, daß die gegen Virus immunen T-Zellen einen vollständigen Zusammenbruch der Blut-Hirn-Schranke für Proteine verursachen. Dies war ein Experiment, das auf die Farbstoff-Untersuchungen von Paul Ehrlich (Nobel-Preis 1908) zurückgeht. Ein Großteil dieser Arbeiten erschien nie als Originalpublikation, sondern wurde nur in einem Artikel veröffentlicht, den wir auf Einladung von G. Möller für *Transplantation Reviews* schrieben.^[3] Dieser enthielt auch die erste provisorische Beschreibung der Entdeckung der MHC-Restriktion.

Die offizielle Zusammenarbeit mit Rolf Zinkernagel begann, als ich ihm vorschlug, CSF-Zellen aus klinisch infizierten Mäusen (Abb. 2) auf cytotoxische T-Lymphocyten (CTL)-Aktivität zu überprüfen. Da er in Lausanne gearbeitet hatte, war er mit dem ⁵¹Cr-Freisetzungs-Assay sehr vertraut, der von J.-C. Cerottini und K. T. Brunner^[19] äußerst effektiv eingesetzt wurde, um Alloreaktivität zu untersuchen, jedoch von ihm nicht auf das Salmonella-Modell übertragen werden konnte. Der CTL-Assay war bereits mit Milzzellen aus LCMV-infizierten Mäusen von M. B. A. Oldstone, O. Marker, M. Volkert und Kollegen eingesetzt worden.^[20, 21] Zufälligerweise verwendeten wir H-2^k-verträgliche CBA/H-Mäuse und L929-Fibroblasten (L-Zellen) als Quelle für T-Lymphocyten bzw. Virus-infizierte Zielzellen. Das erste Experiment funktionierte hervorragend, und wir konnten zeigen, daß die lytische Aktivität durch Thy-1-positive Zellen vermittelt wurde.^[22]



Peter C. Doherty wurde 1940 in Australien geboren. Er studierte Tiermedizin an der University of Queensland, Australien. Von 1963–1967 war er am Animal Research Institute in Brisbane, Australien, und von 1967–1971 am Moredun Research Institute im Department of Experimental Pathology in Edinburgh, Schottland, tätig, wo er 1970 promovierte. Nach einem Aufenthalt von 1972–1975 als Research Fellow am Department of Microbiology an der John Curtin School of Medical Research der Australian National University in Canberra, Australien, ging er als Professor ans Wistar Institute in Philadelphia, PA, USA. 1982 ging er wieder nach Canberra, diesmal als Professor und Leiter des Department of Experimental Pathology. Seit 1988 ist er Direktor des Department of Immunology des St. Jude Children's Research Hospitals in Memphis, TN, USA, und seit 1992 dazu noch Adjunct Professor am Department of Pathology and Pediatrics an der University of Tennessee im College of Medicine in Memphis. Er hat zahlreiche wissenschaftliche Auszeichnungen erhalten, darunter den Paul-Ehrlich-Preis in Deutschland, den Gairdner Foundation International Award in Kanada, den Albert Lasker Medical Research Award in den USA und 1996 den Nobel-Preis für Medizin und Physiologie.

Ungefähr zu dieser Zeit diskutierte die sehr aktive Gruppe von Zell-Immunologen, aus der sich Gordon Adas sich wöchentlich treffende „Bibel-Runde“ zusammensetzte, die gerade erschienene Veröffentlichung über Immunantwort (Ir, immune response) – Geneffekte von B. Benacerraf (Nobel-Preis 1980) und D. H. Katz in Harvard, die ein sehr komplexes In-vivo-Maus-Modell des T-Zell/B-Zell-Zusammenspiels verwendeten.^[23] Später haben wir den Bericht über die Experimente von E. Shevach und A. Rosenthal an den National Institutes of Health (NIH) in Bethesda, Maryland, USA, gelesen, die sich der Frage der Ir-Gene annahmen, indem sie In-vitro-Stimulationen von Meerschweinchen-T-Zellen durchführten.^[24] Das Paradigma^[25] dieser „USA-Ostküsten-Immunologie-Achse“ besagte, daß Ir-Gene, die auf der I-Region (heute MHC-Klasse-II) zwischen den Loci der Haupttransplantationsantigene (H-2K und H-2D, jetzt MHC-Klasse-I) identifiziert wurden, den gesamten (oder Teile des) rätselhaften T-Zell-Rezeptors (TCRs) codierten. Diese Interpretation wäre sicherlich schnell revidiert worden, als bekannt wurde, daß das Ir-Genprodukt (Ia-Antigen) auf Makrophagen exprimiert wird.^[26]

Dann sahen wir in einem Bericht von H. O. McDevitt, G. F. Mitchell und M. B. A. Oldstone, daß es einen „Ir-Geneffekt“ im LCM-Immunpathologie-Modell gab.^[27] Dies veranlaßte uns, alle in Canberra verfügbaren Mäusestämme (CBA/H, BALB/c und C57BL/6J) zusammenzutragen, um zu prüfen, ob wir die Stärke der CTL-Aktivität mit dem H-2-Typ korrelieren konnten. Zu unserer großen Überraschung zeigten nur die H-2^k-T-Zellen lytische Aktivität gegenüber MHC-kompatiblen, LCMV-infizierten L-Zellen.^[3, 4] Da uns keine passenden H-2^b-oder H-2^k-Zelllinien zur Verfügung standen, verwendeten wir primäre Peritonealmakrophagen^[28] als Lieferanten für LCMV-infizierte Zielsysteme, damit wir den reziproken Ausschluß der T-Zell-Erkennung zeigen konnten. Im nächsten wichtigen Experiment arbeiteten wir mit dem H-K^dA/J-Mäusestamm,^[29] mit dem nachgewiesen werden konnte, daß die CTL-Erkennung auf H-2D^d und (vielleicht) auf H-2K^k lokalisiert ist. Spätere Studien zur Hierarchie der Immundominanz^[30, 31] sollten uns zeigen, daß es ein glücklicher Umstand war, ein System zur Verfügung zu haben, in dem sowohl H-2K- als auch H-2D-Allele mit einer wirkungsvollen LCMV-spezifischen CTL-Antwort assoziiert waren. Die grundlegenden Befunde über LCMV wurden schnell von Bob Blandens Schüler Ian Gardner auch bei *Ectromelia* gemacht.^[32] Bob nutzte auch seine Kontakte als etablierter Immunologe, um in den folgenden 12–18 Monaten eine ganze Reihe H-2-rekombinanter und mutanter Mäusestämme einzubringen, die dazu verwendet wurden, (sowohl mit LCMV- als auch *Ectromelia*-Modellen) virusspezifische CTL-Effektorfunktionen auf den MHC-Klasse-I-Allelen zu lokalisieren.^[33, 34] Eine detailliertere Beschreibung der Experimente, die Vorgeschichte des MHCs und die Art und Weise, in der sich das TCR-Repertoire während der Ontogenese entwickelt, finden sich im Beitrag von Rolf Zinkernagel in diesem Heft.^[35]

Die Hypothese des „singular TCR-veränderten Selbst“ („single TCR-altered self“)

Von dem Moment an, als wir die Entdeckung machten,^[3–6] zogen wir zwei mögliche Erklärungen für unsere Befunde in Betracht (Abb. 1). Die erste geht auf die „TCR“-Typ-Hypo-

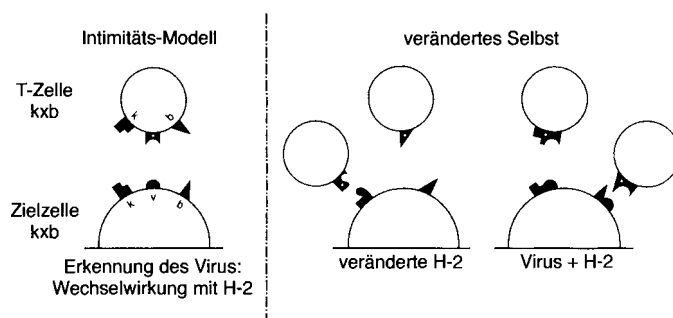


Abb. 1. Beschreibung der Hypothese des „singular T-Zell-Rezeptor-veränderten Selbst“; sie wurde ungefähr ein Jahr nach dem ursprünglichen Experiment, das die MHC-Restriktion der CTL-Aktivität bewies, in *Nature* [4] publiziert. In dieser Publikation bezweifelten wir die Gültigkeit des „Intimitäts-Modells“, das von einer gewissen „like-like“-Wechselwirkung zwischen H-2-Glycoproteinen, die auf dem T-Lymphocyten exprimiert werden, und der Zielzelle ausgeht. Das Experiment und die wissenschaftlichen Zusammenhänge werden in dem Beitrag von Rolf Zinkernagel in diesem Heft detailliert vorgestellt [35].

these von Katz und Benacerraf zurück, in der verschiedene duale Erkennungsmodelle formuliert waren, die während der 70er und frühen 80er Jahre vorgeschlagen wurden. Die zweite besagte, daß das Virus in irgendeiner Weise das MHC-Molekül modifiziert,^[4–6] sei es über eine Komplexbildung auf der Zelloberfläche oder indem es irgendeine andere (vielleicht allosterische) Veränderung hervorruft. Die Idee vom „veränderten Selbst“-Molekül, das von einem einzigen T-Zell-Rezeptor (TCR) erkannt wird, schien für virus-infizierte Zellen plausibel, obwohl wir etwas verwirrt waren, als später gezeigt werden konnte, daß das Nebenhistokompatibilitäts-Antigen den gleichen Regeln gehorcht.^[36, 37] Indizien gegen das duale Erkennungsmodell in seiner ursprünglichen Formulierung („like-like“-Wechselwirkung) resultierten aus adoptiven Transferstudien, mit denen wir zeigten, daß LCMV-geprimte T-Zellen aus H-2-heterozygoten Mäusen („A × B“, F1), die Virus(v)-infizierte A- und B-Zielzellen töteten, sich in „Klontypen“ aufteilen ließen, die sich gegenüber A + v oder B + v lytisch verhielten, nachdem sie in bestrahlten und virusinfizierten Mäusen des Typs A bzw. B stimuliert wurden.^[5] Spätere Varianten des „Zwei-Rezeptoren-Modells“ umgingen dieses Problem, indem man argumentierte, die postulierten Erkennungsmoleküle für A- und B-Moleküle unterlägen ihrerseits der klonalen Exklusion.

Die Hypothese des „singular TCR-veränderten Selbst“ erlaubte es uns, den Haupttransplantationsantigenen eine biologische Rolle zuzuweisen und Alloreaktivität, Ir-Genhierarchien und den extremen Polymorphismus von MHC zu erklären. Von Anfang an glaubten wir, daß wir die mechanistische Grundlage für die immunologische „Selbstüberwachung“ gefunden hätten, obwohl wir den Teminus in einem etwas anderen Zusammenhang verwendeten^[5, 6, 38, 39], als ihn Lewis Thomas und Burnet in ihren Diskussionen über die Anfälligkeit für Krebs gebrauchten.^[40] Viele Leute, einschließlich einiger unserer Kollegen in der JCSMR-Gruppe, schlossen sich der Idee des „veränderten Selbst“ nicht an.^[34] Sie blieb ca. zehn Jahre kontrovers und wurde von den meisten T-Zell-Immunologen als ketzerisch erachtet (wird in Lit. [41, 42] diskutiert). Die „Zwei-Rezeptoren-Modelle“, denen im allgemeinen der Vorzug gegeben wurde, hatten jedoch weiterhin das Problem, keine befriedigende Verallgemeinerung zuzulassen, die die Alloreaktivität und den Ir-Genmechanismus in Einklang bringen würde.

A. R. Townsend, A. J. McMichael und Kollegen lösten das Dilemma mit ihrer Entdeckung, daß MHC-Klasse I-Moleküle virale, über einen „endogenen“ Mechanismus prozessierte Peptide präsentieren.^[43] Die Veröffentlichungen über die dreidimensionale Struktur eines MHC-Klasse I-Moleküls von P. J. Bjorkman, J. L. Strominger, D. C. Wiley et al.^[44] sowie über die Definition der beiden TCR-Ketten durch M. M. Davis, S. Hedrick, T. Mak, J. Allison, P. Marrack, J. Kappler, S. Tonegawa und andere^[45] trieben die letzten Nägel in den Sarg der „dualen TCR-Modelle“. Die kürzlich erfolgte Charakterisierung der Tertiärstruktur des TCRs brachte die Debatte, die mit der Hypothese des „veränderten Selbst“ begann, zu einem sehr befriedigenden Abschluß.^[46, 47]

Das LCMV-Modell und die T-Zell-Adressierung in vivo

Die MHC-Restriktion der CTL-Effektorfunktion wies von Anfang an darauf hin, daß die virusimmune T-Zelle direkt mit der virusinfizierten Zielzelle wechselwirken muß. Das war bezüglich der Alloreaktivität bereits klar, doch hatte niemand angenommen, daß die Haupttransplantationsantigene in irgendeiner Weise in die Immunantwort auf Pathogene involviert wären. Überlegungen zur zellvermittelten Immunität (CMI) waren sehr stark durch Experimente mit *Listeria monocytogenes* geprägt, die die Rolle der T-Zellen zur Mobilisierung und Aktivierung von Makrophagen unterstrichen.^[10] Die Anzahl und der Zustand (in der Terminologie der Hitzeschockprotein-mRNA-Expression) von Monocyten/Makrophagen in den Lungen von Mäusen, die mit einem Influenza-A-Virus infiziert wurden, sind beispielsweise eindeutig eine Funktion der gleichzeitigen CD4⁺- und/oder CD8⁺-T-Zell-Antwort.^[48] Makrophagen, die während der T-Zell-vermittelten Eliminierung des LCMV- oder Ectromelia-Virus aktiviert worden sind, können *L. monocytogenes* rasch zerstören.^[49]

Die Erkenntnisse bezüglich der MHC-Restriktion, die auf In-vitro-CTL-Assays basierten, wurden schnell auf die In-vivo-Situation übertragen. Einer der Gründe für die Leistungsfähigkeit des LCMV-Modells war die Tatsache, daß wir über ein sehr sauberes In-vivo-System zur Analyse eines Entzündungsprozesses verfügten. Anders als viele andere Viren verursacht LCMV nur geringe Schädigungen, und die Stärke der von der T-Zell-Antwort unabhängigen Hintergrunds-Zellinfiltration ist nur gering (Abb. 2).^[3, 50] Verbindet man dies mit der Möglichkeit, sehr genau zu quantifizieren, indem man die Zellen in der CSF zählt, so kann man sehr schnell mit adoptiven Transferexperimenten zeigen, daß in vitro und in vivo dieselben Regeln für die T-Zell-Erkennung gelten. Dies konnte für die Unterschiede im MHC-Haplotyp, insbesondere der MHC-Klasse-I-Allele und für H-2-mutante Mäuse gezeigt werden.^[34, 51, 52]

Die Interpretation, daß T-Zellen in vivo direkt an die virusinfizierte Zielzellen binden und nicht einfach an passende Antigen-präsentierende stimulierende Zellen, blieb jedoch weiterhin Diskussionsthema. Die Alternative war, daß Cytokine, die infolge solcher Wechselwirkungen ausgeschüttet werden, die Schlüssel-Effektormoleküle sind; diese Interpretation scheint für die Kontrolle eines Hepatitis-Virus-Transgens über Interferon-vermittelte Mechanismen zu greifen.^[53] Bis jetzt scheint

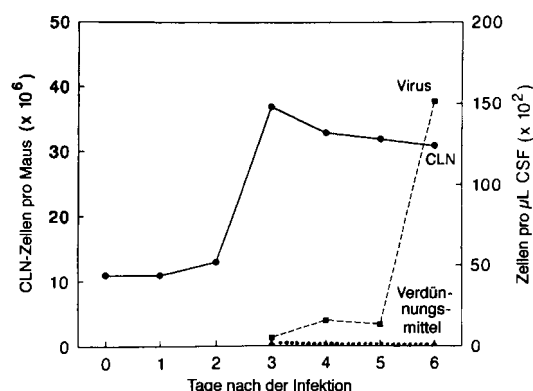


Abb. 2. Die Entdeckung, daß die Population an Immunzellen, die aus der CSF von Mäusen mit klinischer LCM gewonnen wurden, wirksame CTL-Effektorzellen enthält, führte zur Aufdeckung der MHC-Restriktion [22]. Die gezeigten Daten stammen aus einem viel späteren Experiment [50], in dem der massive Fluß von Zellen (gestrichelte Linie) in die CSF gezeigt werden konnte, der mit dem Einsetzen der CTL-Aktivität zwischen Tag 5 und 6 nach der Infektion des Zentralen Nervensystems einhergeht. Gezeigt ist auch der vorher stattfindende Anstieg der Zellpopulation auf das Vierfache in den zervikalen Lymphknoten (cervical lymph nodes, CLN) (durchgezogene Linie).

dieses Hepatitis-Modell jedoch einzigartig zu sein. Adoptiv übertragene LCMV-immune T-Zellen lösten in virusinfizierten chimären Mäusen nur dann schwere Meningitis aus, wenn virusinfizierte Epithelzellen im Gehirn das passende MHC-Restriktionselement trugen. Weder die sekundäre Stimulierung der virusspezifischen CTL-Population im lymphatischen Gewebe, noch die Wechselwirkung mit entzündungsfördernden Monocyten/Makrophagen am Ort des pathologischen Geschehens waren alleine ausreichend, den für die LM charakteristischen massiven Zellflüssigkeitsaustritt zu verursachen.^[54–56]

Vielleicht kam der endgültige Hinweis darauf, daß die LCMV-immunen CTL-Effektorzellen direkt mit dem virusinfizierten ZNS-Epithel in vivo wechselwirken, aus Experimenten mit Perforin (–/–)-Mäusen, die nicht die klassischen Symptome der T-Zell-vermittelten Immunpathologie entwickeln.^[57] Cytokinvermittelte Mechanismen könnten jedoch für die chronische progressive Muskelatrophie verantwortlich sein,^[58–60] die bei LCMV-infizierten CD8⁺-„knockout“- (–/–)-Mäusen und CD8⁺-T-Zell-defizienten Mäusen^[61] auftritt, die bezüglich β 2-Microglobulin (β 2-m), der leichten Kette der MHC-Klasse-I-Glycoproteine, –/– sind. Mäuse beider genetisch veränderter Stämme sind nicht in der Lage, LCMV zu eliminieren, was zu einer anhaltenden Konfrontation zwischen virusinfizierten Stimulatoren und der CD4⁺-Immunpopulation führt. Die Untersuchungen mit LCMV und andere Experimente mit respiratorischen Viren (siehe nächsten Abschnitt) zeigen, daß die von CD4⁺- und CD8⁺-T-Zellen angewandten Effektor-mechanismen, mit Viren fertig zu werden, grundsätzlich verschieden sind.

Die „Nicht-Selbst“-Komponente: Analyse mit respiratorischen Viren

Die Arbeitsteilung an der JCSMR auf dem Gebiet der LCMV-Experimente war so, daß Rolf Zinkernagel sich um die In-vitro CTL-Analyse kümmerte, während ich für die In-vivo-Experimente zur Immunpathologie und für das Schreiben der Manuskripte verantwortlich war, wobei ich selbstverständlich

von seiner unverzüglichen und permanenten Kritik profitierte. Ich beschäftigte mich mit Atemwegsinfektionen, die durch das Parainfluenzavirus vom Typ 1 (das Sendai-Virus) verursacht werden, um eine Möglichkeit zu finden, den CTL-Assay einzusetzen,^[62] und um zu bestätigen, daß die MHC-Restriktion für mehr als nur LCMV und Pockenviren galt.^[27, 32, 63] Jahre später kam ich am St. Jude Children's Research Hospital auf das Sendai-Modell^[64, 65] zurück, hauptsächlich aufgrund der zur Verfügung stehenden molekularimmunologischen Erfahrungen im Labor von A. Portner.

Als ich Mitte 1975 an das Wistar Institute nach Philadelphia wechselte, wurde mir sehr schnell klar, daß die Tier-Anlagen nicht sicher genug waren, um ein umfassendes Experimentieren mit LCMV zu erlauben, die in Mäusekolonien klinisch „stille“ Infektionen auslösen können. Da die CTL-Antwort auf das Sendai-Virus von anderen am Wistar Institute untersucht wurde, nahm ich die Gelegenheit wahr, mit W. E. Gerhard über die T-Zell-vermittelte Immunität gegenüber Influenza-A-Viren zusammenzuarbeiten (Abb. 3). Walter Gerhard hatte seine Kenntnisse auf dem Gebiet der Influenza-Virologie bei Stephen Fazekas de St. Groth^[1] am Institut für Immunologie in Basel erworben. S. Fazekas de St. Groth war seinerzeit in Fenners Virologie-Department an der JCSMR eine herausragende Kapazität.

Ziel war es, rekombinante Influenza-A-Viren zu nutzen, um die andere Hälfte der T-Zell-Spezifitätsgleichung zu entschlüsseln, d.h. die viralen Komponenten (neben dem Beitrag der MHC-Glycoproteine). Die sogenannten Rekombinanten erhält man, indem man zwei verschiedene Influenza-A-Viren gleichzei-

tig in einer Zelle heranzieht.^[66] Die acht Segmente des Influenza-Genoms rearrangieren sich und liefern so neue Varianten; dieser Mechanismus ist verantwortlich für den „Antigen-Shift“. Aus immunologischer Sicht lag der Hauptschwerpunkt bei den Influenza-Forschungsarbeiten, die sich auf Impfstoff-Studien konzentrierten, auf den viralen Glycoproteinen Hämagglutinin (H) und Neuraminidase (N). Um diese Virion-Oberflächenproteine geht es beim Antikörpervermittelten Selektionsdruck, der im „Antigen-Shift“ resultiert, einem weiteren Mechanismus zur Bildung neuer pandemischer Stämme.

Wir dachten, wir könnten mit serologisch unterschiedlichen Varianten, wie H1N1- und H3N2-Viren, die nicht zur Kreuzneutralisation fähig sind, die CTL-Aktivität H oder N zuschreiben. Beide werden auf der Plasmamembran virusinfizierter Zellen exprimiert. Ziel war es, Varianten mit einem „Antigen-Drift“ zur Erfassung der Feinspezifität zu verwenden. Die anfänglichen Experimente wurden von meinem ersten Studenten, R. B. Effros, durchgeführt, und später von meinem zweiten Studenten, J. Bennink, weiterverfolgt. Zu unserer großen Überraschung fand Rita, daß die CTL-Antwort dieser beiden Viren eine nahezu vollständige Kreuzreaktivität zeigten.^[67, 68] Obwohl wir nichts voneinander wußten, wurden gleichzeitig ähnliche Befunde in B. A. (Ita) Askonas' Labor am National Institute for Medical Research in London erhalten.^[69] Unsere Erkenntnisse über LCMV hatten Ita veranlaßt, ihre langjährigen Studien auf dem Gebiet der B-Zell-Antworten aufzugeben und sich auf die virusspezifische T-Zell-vermittelte Immunität zu konzentrieren. Ihr Labor sollte über die nächsten zehn Jahre einen enormen Beitrag leisten.

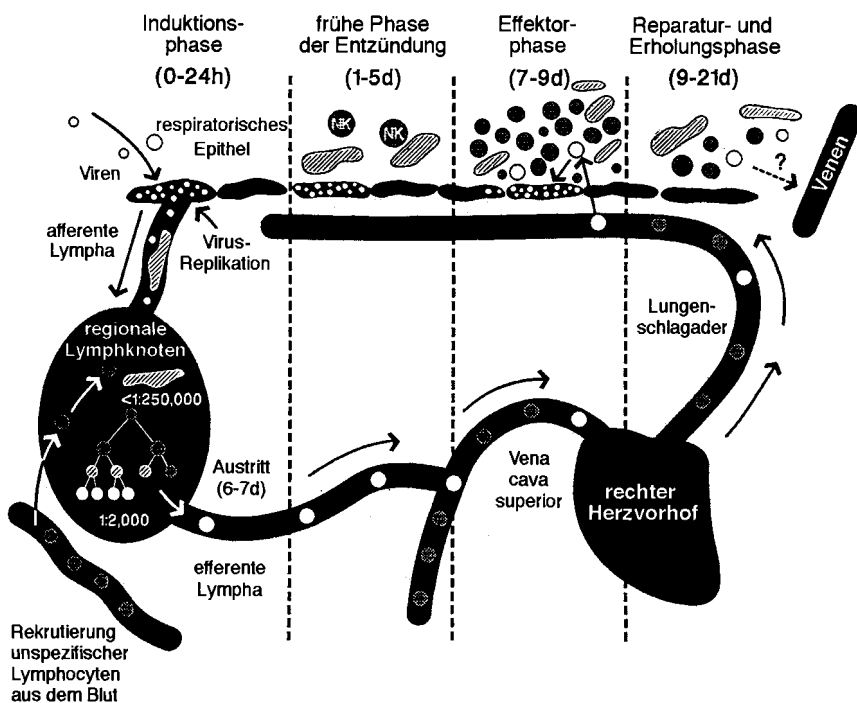


Abb. 3. Übersicht über die Ereignisse, die im respiratorischen System und in regionalen Lymphknoten von Influenza-A-Virus- oder Sendai-Virus-infizierten Mäusen auftreten [64, 83, 98]. Infektiöse Viren können normalerweise nach mehr als neun Tagen nach der Infektion nicht mehr aus der Lunge entfernt werden. Die CD8⁺- und CD4⁺-T-Zellen sind für den größten Teil der Monocyten/Makrophagen-Aktivierung verantwortlich [48]. Der CD8⁺-Satz ist hauptverantwortlich für die Entzündungsausbreitung, doch sind die meisten dieser Lymphocyten für andere Antigene spezifische T-Gedächtniszellen. Wahrscheinlich ist das Verhältnis der gegen eindringende Pathogene reaktiven Zellen kleiner als 1:100 [99]. Wirksame CTL-Effektorzellen und eine Vielzahl der Cytokine bildenden Zellen werden vorzugsweise in der virusinfizierten Lunge gefunden.

Obwohl es uns zu diesem Zeitpunkt nicht gelang, die Natur der „antigenen Einheit“ zu beschreiben, die von Influenzaspezifischen CTLs erkannt wurde, stützten die Ergebnisse dieser frühen Experimente die Schlußfolgerung aus den Analysen bezüglich der MHC-Restriktion, nämlich, daß das Spezifitätsprofil von T- und B-Lymphocyten grundsätzlich verschieden ist.^[34, 70] Außerdem stellten wir schnell fest, daß der Kontakt mit irgendeinem Influenza-A-Virus das T-Zell-Gedächtnis für eine sekundäre Antwort (Abb. 4) auf irgendeinen anderen Influenza-A-Virus „primt“. Dies bedeutete, daß eine Infektion mit einem durch Antigen-Drift oder Antigen-Shift gekennzeichneten Influenza-A-Virus beim Erwachsenen im Kontext einer sekundären CTL-Antwort und einer primären humoralen Antwort fortschreitet. Wahrscheinlich erklärt der, wenn auch unzulängliche Schutz, den Influenzaspezifische T-Gedächtniszellen^[72-74] gewähren, warum Jugendliche und Erwachsene mittleren Alters im allgemeinen weit weniger häufig an Grippe sterben, als kleine Kinder und ältere Menschen. Diese Ergebnisse wurden sehr schnell auch bezüglich anderer Viren bestätigt: Nach den Influenza-Experimenten konnte gezeigt werden, daß auch jene Viren – was nach

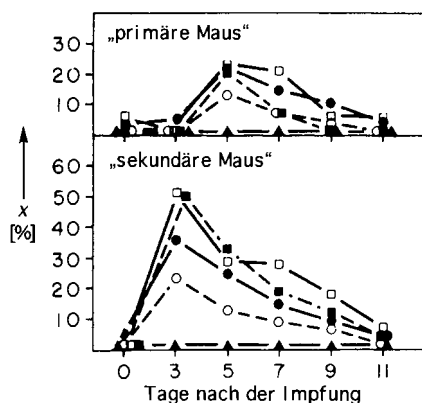


Abb. 4. Immunologisch naive (primäre) CBA/J-(H-2^k)-Mäuse und (sekundäre) Mäuse, die 52 Tage zuvor mit dem PR8-(H1N1)-Influenza-A-Virus infiziert worden waren, wurden mit dem HK x 31-(H3N2)-Influenza-A-Virus konfrontiert [68]. Milzzellen wurden in den angegebenen Intervallen auf H-2-kompatible Zielzellen untersucht (100:1), die mit einer Reihe von Influenza-A-Virustypen oder einem Influenza-B-Virus (Dreiecke) infiziert waren. Deutlich erkennbar sind sowohl die beschleunigte Kinetik als auch die Stärke der erneuten Antwort. Spätere Experimente mit HK x 31-infizierten C57BL/6J-(H-2^b)-Mäusen zeigten eine sehr geringe CTL-Aktivität in Lymphgeweben nach primärer Konfrontation [98]. x = spezifische ⁵¹Cr-Freisetzung.

Serum-Analysen nicht zu vermuten war – CTL-spezifische Charakteristika auslösen konnten.^[75]

Weitere bedeutende Experimente, die damals mit dem Influenza-Modell durchgeführt wurden, ermöglichten die Ausweitung der MHC-Restriktion auf das Rattenmodell,^[76] vor allem aber lieferte A. J. McMichael in Askonas' Labor den klaren Beweis für die Gültigkeit der MHC-Restriktion beim Menschen.^[77] Dieser unerwarteten Kreuzreaktivität gegenüber Influenza-Viren auf der Spur, machte A. Townsend (auch in Askonas' Labor) die folgenreiche Entdeckung,^[43, 78] daß MHC-Klasse-I-spezifische T-Zellen auf ein aus dem Influenza-Nucleoprotein (NP) gewonnenes Peptid antworten. Dies erklärte letztendlich die der Hypothese des „veränderten Selbst“ zugrundeliegenden molekularen Mechanismen (Abb. 1) und initiierte die Erforschung der Antigenprozessierung im „endogenen“ Kompartiment. Jack Bennink und J. R. Yewdell zeigten am Wistar Institute anhand von Analysen rekombinanter Vaccinia-Viren ebenfalls, daß sich ein Großteil der CTL-Erkennung im Influenza-Modell gegen interne Viruskomponenten richtete.^[79]

Später entwickelten sich die nicht-letalen respiratorischen Infektionen zum experimentellen System der Wahl, um lokalisierte, vorübergehende virale Infektionen zu analysieren.^[80–83] Diese Modelle haben den Vorteil, daß es ganz einfach ist, sowohl regionales Lymphgewebe, als auch Entzündungszellen aus der pneumonischen Lunge durch Bronchiallavage (BAL, bronchoalveolar lavage) zu gewinnen. Es gibt aber keinen eindeutigen Weg nachzuweisen, ob das Virus oder das virale Genom nach der Infektion mit solch einem „Negativstrang-RNA-Virus“ weiterexistieren kann;^[84] dies wäre jedoch äußerst wichtig zu wissen, wenn wir uns mit dem schwierigen Gebiet des T-Zell-Gedächtnisses auseinandersetzen.^[85]

Einige jüngere Experimente beschäftigten sich wiederum mit der Frage, was T-Zellen in vivo adressieren, eine Frage, die wir schon früher mit dem LCMV-Modell zu analysieren versuchten (Abb. 2). Die „Clearance“ des Sendai-Virus hängt von den CD8⁺-Effektor-T-Zellen ab, die direkt mit virusinfiziertem MHC-Klasse-I⁺-Lungenepithel wechselwirkten;^[86] dies konn-

ten wir mit adoptiven Transferprotokollen und aus durch Knochenmarkstrahlung erhaltenen Chimären zwischen $\beta 2\text{-m}^{-/-}$ und $(+/+)$ -Mäusen zeigen. Der umgekehrte Schluß bezüglich der Fähigkeit von CD4⁺-T-Zellen,^[87–89] eine Influenza-Virusinfektion in Abwesenheit der CD8⁺-Untereinheit zu kontrollieren, gelang: die Expression von MHC-Klasse-II-Glycoproteinen, die gegen die CD4⁺-T-Zellen gerichtet sind, ist im respiratorischen System nicht von essentieller Bedeutung.^[90] Jüngere Experimente von David Topham bestätigen die von Walter Gerhard^[91] aufgestellte These, daß die vollständige Virusbeseitigung, die Clearance, durch CD4⁺-T-Zellen nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von Antikörper-produzierenden Zellen funktioniert.

Quantifizierung von Entzündungen und T-Zell-vermittelter Immunität

Das Wesentliche an virologischen Studien zur Pathogenese war immer die Quantifizierung, ein Thema, das mit Mac Burnets Plaque-Assays begann und von Cedric Mims mit der Lokalisierung virusinfizierter Zellen in verschiedenen Organbereichen mittels Fluoreszenz-Mikroskopie fortgesetzt wurde.^[9] Die „Messung“ eines Entzündungsprozesses, also der Auswirkung einer CMI, erfolgte traditionell (bestenfalls) semiquantitativ. Der klassische Assay zur Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ (DTH, delayed-type hypersensitivity), der sich der Pfotenschwellung bedient, stellt in diesem Zusammenhang nur ein sehr grobes Instrument dar.

Analyse von Entzündungen

Meine frühen Erfahrungen auf den Gebieten der „Ultrastruktur-Pathologie“ und der Immunocytochemie^[92, 93] lösten in mir eine immense Neugier bezüglich der Natur der Lymphocyten-Population aus, die in Gewebebereiche mit Viruswachstum eindringt (Abb. 5). Die zusammen mit H. W. Reid am Moredun

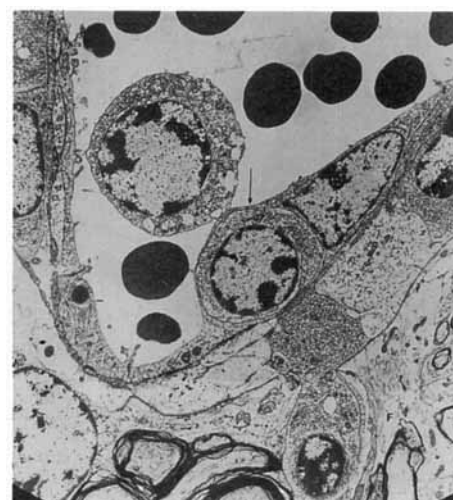


Abb. 5. Mein Interesse an der Natur der virusspezifischen CMI wurde durch die experimentellen Studien der durch das Looping-ill-Virus hervorgerufenen Enzephalomyelitis geweckt, die Hugh Reid und ich am Moredun Research Institute in Edinburg an Schafen durchführten [92–94]. Die elektronenmikroskopische Aufnahme zeigt Zellen unbestimmter Natur, die aus einer Kapillare in das Gehirnparenchym eintreten. Die Ausbreitung von Lymphocyten in Gewebebereiche, in denen Viruswachstum stattfindet, ist das zentrale Charakteristikum der CMI.

Research Institute in Edinburgh durchgeführten Experimente mit dem Schaf-Springseuche-Modell (von Zecken übertragener Flavivirus: Looping-ill-Virus) führten uns zu dem Schluß, daß Antikörper-bildende Zellen sich ins ZNS ausbreiteten und in situ für eine kräftige virusspezifische Ig-Immunantwort verantwortlich waren.^[92, 94] Von D. E. Griffin viel später durchgeführte Experimente zeigten, daß solche lokal produzierten Antikörper eine Sindbis-Virusinfektion im Mäusegehirn kontrollieren.^[95]

Die doppelte Frustration morphologischer Ansätze gründet sich auf das Fehlen einer funktionellen Analyse und die Schwierigkeit der Quantifizierung; nach meiner jetzigen Auffassung ist es allerdings dringend nötig, der anatomischen Lokalisierung des Immungeschehens mehr Aufmerksamkeit zu widmen, was mit modernen mikroskopischen Methoden zu erreichen wäre. Meine frühen Versuche zur Quantifizierung der Entzündungspathologie ließen mich die CSF-Zapftechniken aufgreifen, die Richard Carp^[15] zum Studium enzymatischer Aktivität in der CSF aus dem Gehirn Scrapie-infizierter Mäuse entwickelt hatte. Ich übertrug die Technik auf das Studium viraler Meningitis (Abb. 2). Experimente mit diesem einfachen Modell veranlaßten uns, den LCMV-spezifischen CTL-Assay zu entwickeln und ermöglichten die In-vivo-Analyse MHC-restringierter Funktionen von T-Zell-Effektoren. Die Möglichkeit, statistisch signifikante Unterschiede sehr geringer Effekte zu messen, ließ uns In-vivo-Studien mit einer einzigartigen Empfindlichkeit durchführen.^[13, 34] Niemand sonst verwendete jedoch dieses analytische System, da der Ansatz technisch anspruchsvoll und nur im LCMV-Modell wirklich sinnvoll war. Der zweite große Vorteil, Entzündungszellen direkt aus der CSF (oder über BAL aus der Lunge) zu gewinnen, liegt darin, daß die Lymphocyten nicht durch enzymatische Techniken von Gewebe befreit werden müssen. Das war bei späteren Experimenten von großem Nutzen, bei denen wir uns auf cytometrische Flußanalysen und Fluoreszenz-Zellsortierer (FACS: Fluorescent Activated Cell Sorter) konzentrierten, um die funktionellen T-Zell-Untergruppen zu definieren.^[56, 96, 97] Diese Experimente wurden zunächst mit dem LCMV (mit R. Ceredig in Canberra) begonnen und dann zu einem Schwerpunkt in Memphis beim Studium respiratorischer Infektionen (Abb. 3).^[98, 99]

Messung der T-Zell-Antwort

Obwohl der In-vitro-⁵¹Cr-Freisetzung-CTL-Assay Zahlen liefert, kann die Häufigkeit des Auftretens von Vorläufern (p: precursor), die eine ähnlich starke lytische Aktivität zeigen (sowohl im Verlauf der In-vivo-Infektion als auch als Folge einer In-vitro-Kultivierung), sehr stark variieren.^[100, 101] Die Größe des CD8⁺-CTL-Anteils in der BAL-Population von Mäusen mit einer Influenza-Lungenentzündung ist z. B. anscheinend identisch mit der von CD4⁺-T-Zell-defizienten MHC-Klasse-II (–/–)-Mäusen zehn Tage nach einer Infektion und der von MHC-Klasse-II (+/+)-Kontrollmäusen.^[101, 102] Dennoch ist die Zahl der CTLp sowohl in BAL als auch in regionalen Lymphknoten bei den MHC-Klasse-II (–/–)-Mäusen weitaus niedriger, und die Virus-Clearance kann leicht verzögert sein. Der viel kleinere CTLp-Bestand von MHC-Klasse-II (–/–)-Mäusen wird fast vollständig aufgebraucht, um ein

Niveau an CTL-Effektorfunktion zu erreichen, das ausreicht, mit einer Infektion fertig zu werden. Der auf den CTL-Ergebnissen allein beruhende Schluß, daß die Abwesenheit von CD4⁺-Zellen die Stärke der CD8⁺-T-Zell-Antwort nicht wesentlich beeinflusst, wäre also irreführend. Bei solchen In-vivo-Pathogenese-Studien sind sorgfältige kinetische Analysen extrem wichtig.

Das erkannten wir erstmals, als wir versuchten, die Immunantwort (Ir)-Genhierarchie, die wir für die MHC-I-Allele H-2K^k, H-2K^b und H-2D^b mit Influenza-A-Viren identifiziert hatten, zu quantifizieren.^[30, 31] Die dabei vorherrschende Situation ist durch folgenden Sachverhalt gekennzeichnet: Die CTL-Antwort auf H-2D^b + NP-Peptid ist in Mäusen, die H-2K^b exprimieren, dominant, aber offensichtlich nicht vorhanden, sobald H-2K^k anwesend ist. Dasselbe passiert mit Vaccinia-Viren. Jack Bennink und ich versuchten hartnäckig, den zugrundeliegenden Mechanismus herauszufinden. Wir folgten einem sehr aufwendigen Protokoll, das wir von J. A. Sprent übernahmen; dabei werden Kanülen in den Wirbelkanal eingebracht und durch negative Auslese in vivo die alloreaktiven T-Zellen ausgemustert.^[103] Das Fehlen jeglicher sinnvollen Lösung ist ein gutes Beispiel für die Tatsache, daß (obwohl wichtige Einblicke gewonnen werden können) molekulare Mechanismen letztendlich nicht mit biologischen Experimenten aufgeklärt werden können. Meine jetzige Vermutung geht dahin, daß H-2K^k mit H-2D^b um irgendein unveränderliches Molekül sehr stark konkurrieren muß, das in die MHC-Klasse I-Antigenprozessierung involviert ist.^[104] Allerdings muß dabei H-2D^b + NP noch in so hohem Maße vorhanden sein, daß es von dem entsprechenden CTL-Effektor auf einer H-K^kD^b-Zielzelle erkannt werden kann.

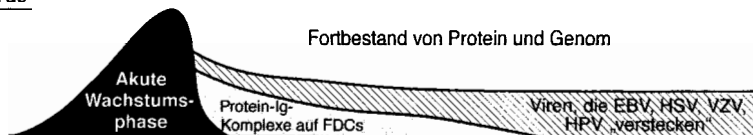
Als J. A. Owen nach Philadelphia kam, übernahm sie die Aufgabe, eine quantitative „Limiting-Dilution-Analyse“ (LDA) zur Bestimmung Influenzavirus-spezifischer CTLp-Häufigkeit zu entwickeln.^[105] Das war ein Ansatz, der in den folgenden Jahren zum zentralen Thema meiner Forschungsarbeiten wurde. Judy Owen und Michelle Allouche wandten diese Technik auf das H-2K^kD^b-Hierarchieproblem an und fanden, daß bei Mäusen, die einen Monat zuvor oder früher „geprimt“ worden waren, die Zahlen der für Influenza-Viruskomponenten spezifischen CTLps, die in Zusammenhang mit H-2K^k und H-2D^b exprimiert werden, ähnlich sind.^[106] Von R. A. Tripp kürzlich in Memphis durchgeführte Experimente mit diesem System ergaben, daß der Grund für die bevorzugte Bildung H-2K^k-restringierter CTL-Effektorzellen auf der schnelleren Evolvierung dieser Komponente der Immunantwort beruht.

Die Geschwindigkeitproblematik in der Immunologie

Das im folgenden Gezeigte ist ein gutes Beispiel für die Hauptschwierigkeiten, mit denen wir bei der Entwicklung eines detaillierten Verständnisses der Immunologie konfrontiert werden. Wie messen wir die wahre Kinetik der Immunantwort in bezug auf Bildung und Dezimierung von Lymphocyten und in bezug auf Wanderungsgeschwindigkeiten der Lymphocyten durch die verschiedenen Gewebearten, die wir untersuchen? Eine der wesentlichen Erkenntnisse, die Untersuchungen mit Superantigenen erbrachten, war, daß die Mehrzahl der T-Zellen, die nach der Aktivierung zur Proliferation übergehen, als Folge davon

abstarben.^[107, 108] Zu Anfang dachten wir, dies gälte nicht für „konventionelle“ Antigene wie die Influenza-Virus- oder Sendai-Virus-Epitope, vor allem, weil sequentielle LDA zeigten, daß die CTLp-Häufigkeit (1:2–3000 Zellen in einem Lymphknoten) ab einem Zeitpunkt von sieben Tagen nach einer Infektion bis hin zum Langzeitgedächtnis eine bemerkenswerte Konstanz aufwies (Abb. 6).^[85, 99, 109] Damit ergab sich eine gewisse Diskrepanz zu den Ergebnissen der LDA-Untersuchungen an LCMV von Rafi Ahmed et al.^[110] Wir einigten uns jedoch darauf, daß der Unterschied wahrscheinlich auf die Tatsache zurückzuführen war, daß eine systemische LCMV-Infektion zweifellos einen weitaus stärkeren antigenen Stimulus hervorruft.

Virus



T-Zellen

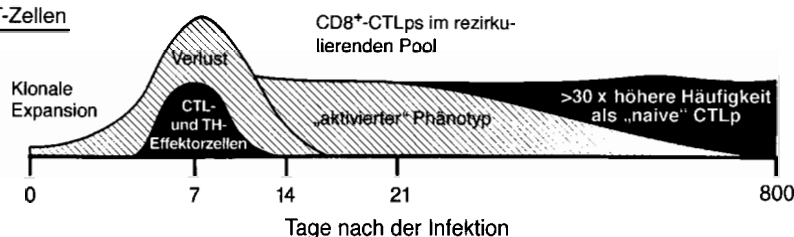


Abb. 6. Virus. Die Replikation von Negativstrang-RNA-Viren wird im allgemeinen durch eine Immunantwort innerhalb von 7–10 Tagen beendet [84, 118]; dabei bleibt normalerweise als einziger Hinweis auf das infektiöse Agens die langfristige Aufrechterhaltung von Protein-Ig-Komplexen auf der Oberfläche von follikulären dendritischen Zellen (FDCs) zurück [110]. Diese scheinen nicht für die Aufrechterhaltung des Influenza-spezifischen CD4⁺-T-Zell-Gedächtnis entscheidend. Andere Pathogene, wie die Herpes-Viren, können in latenter Form in Neuronen oder B-Lymphocyten überleben und periodisch in eine lytische Phase übergehen [120]. – T-Zellen. Die klonale Expansion von CD4⁺-THps und CD8⁺-CTLps während der akuten Phase der Immunantwort zeichnet sich durch einen weit über das benötigte Maß hinausgehenden Überschuß dieser Spezies aus, der nötig wäre die Cytokin-bildenden TH- oder CTL-Effektorpopulationen aufzubauen, um mit einer Infektion fertig zu werden. Viele der CTLps sterben, oder werden ausgeschieden. Danach scheint die CTLp-Häufigkeit im Leben einer Labormaus bemerkenswert stabil zu bleiben. Allerdings kann sich der Aktivierungs-Phänotyp dieser T-Zellen (wie erstmals von Sam Hou gezeigt [121]) mit der Zeit ändern.

Das Thymidin-Analogon Bromdesoxyuridin (BrDU) läßt sich in die DNA sich vermehrender Zellen einbauen und führt zur Bildung toxischer Thymidindimere, wenn sie hellem Licht ausgesetzt werden. Dieses Protokoll wurde vor vielen Jahren dazu verwendet, die Selbstzerstörung („Suizid“) in vitro aktivierter T-Zellen zu induzieren.^[11] Ralph Tripp fand, daß die Einführung von BrDU in proliferierende T-Zellen in vivo denselben Effekt hatte, sofern die Lymphocyten dem Laserstrahl des Durchflußcytometers ausgesetzt waren.^[112] Unter Verwendung dieses Protokolls wird klar, daß die Zahl der CTLps, die während der akuten Phase der Immunantwort auf ein Influenza-A-Virus erzeugt werden, mehr als das Zehnfache dessen beträgt, was Schätzungen der CTLp-Häufigkeit erwarten lassen (Abb. 6). Einige dieser T-Zellen sind als CTL-Effektorzellen im virusinfizierten Atmungsapparat nachweisbar, doch scheint es, daß viele andere verloren gehen. Wenn man eine virusspezifische CD8⁺-T-Zell-Antwort durch CTL-Effektorzell-Assays mißt, wird die Zahl der gebildeten CTLps vernachlässigt. Die aufwendigere Quantifizierung der CTLp-Häufigkeit zeigt jedoch nur das Gleichgewicht zwischen CTLp-Bildung und -Dezimierung

und läßt keine genaue Abschätzung bezüglich der wahren Stärke einer akuten Immunantwort des Wirtes zu. Bei T-Gedächtniszellen, bei denen die Zellpopulationen mit viel geringerer Geschwindigkeit reproduzieren, ist das ein geringeres Problem.^[113]

Homöostase: am Rande des Chaos?

Die oben beschriebenen Erfahrungen zusammen und der Versuch, die Natur des T-Zell-Gedächtnisses zu verstehen, ließen mich mit der Überzeugung zurück, daß die Hauptherausforderung für die zelluläre Immunologie darin liegt, ein klareres Verständnis der Homöostase von Lymphocyten zu entwickeln.^[114] In der Vergangenheit wären sicherlich viele Kollegen den Ansichten von Burnet gefolgt, der das Gleichgewicht zwischen Antwortfähigkeit und Toleranz als Schlüsselthema favorisierte. Neuere Studien (vor allem mit transgenen Mäusen) brachten Licht in diese Problematik und ließen die klare Abgrenzung zwischen beiden verwischen, woraufhin das Toleranz/Antwort-Mantra an Attraktivität verlor.^[115] Man könnte zwar argumentieren, daß Toleranz/Antwort lediglich eine verfeinerte Darstellung des Homöostaseproblems ist, doch bestimmt die Sprache das Wahrnehmungsvermögen, und indem man den zentralen Punkt in dieser Weise definiert, wird die Aufmerksamkeit ausschließlich auf das Antigen gelenkt und weg von physiologischen Mechanismen und quantitativen Überlegungen, die ebenfalls äußerst wichtig zu sein scheinen.

Besessenheit auf dem Gebiet der Homöostase kann sich als äußerst gefährlich auswirken, wie man in der Vergangenheit an einigen der unnütze- sten und teuersten Bemühungen in der Immunologie gesehen hat. Ich glaube, es ist dennoch an der Zeit, unsere experimentell begründete Disziplin mit den Beiträgen von Theoretikern in verstärktem Maße zu bereichern, besonders wenn jene eine mathematische Ausrichtung haben. Ein gutes Beispiel dafür, daß die quantitative Analyse zur Entwicklung von Modellen mit besserer Vorhersagbarkeit beitragen kann, ist die kürzlich durchgeführte Bestimmung der Zahl virusinfizierter Zellen bei Menschen,^[116] die mit dem menschlichen Immundefizienz-Virus (human immunodeficiency virus, HIV) infiziert waren. Influenzavirus-spezifische CD8⁺-T-Gedächtniszellen weisen über einen sehr langen Zeitraum eine bemerkenswerte Konstanz in ihrer Häufigkeit auf (Abb. 6). Ist das ein Beispiel^[117] für ein chaotisches System? Nun, da wir beginnen, brauchbare Zahlen zu produzieren, benötigen wir die Hilfe der Leute, deren Geschäft es ist, mit Zahlen umzugehen.

Zusammenfassung

Die Triebkraft für die Weiterentwicklung des Immunsystems von Wirbeltieren war die Notwendigkeit, mit Pathogenen fertig zu werden. Deshalb sollte es nicht verwundern, wenn Experi-

mente mit infektiösen Keimen häufig Schlüsselemente der zugrundeliegenden Mechanismen ans Licht brachten. Die Entdeckung der MHC-Restriktion und die Entwicklung der Hypothese des „singulär TCR-veränderten Selbst“ ist ein klassisches Beispiel dafür, wie es an der Kontaktfläche verschiedener wissenschaftlicher Disziplinen und Denkweisen, einer unausweichlichen Konstellation beim Studium der viralen Pathogenese, zu profundem Paradigmenwechsel kommen kann. Der Fortschritt der darauffolgenden zehn Jahre und die intellektuellen Richtungen, die aufgrund dieser einfachen Arbeitshypothese eingeschlagen wurden, sagen uns eine ganze Menge über die Macht von Ideen, womit nicht die Bedeutung der Technologien geschmälert werden soll. Unser Erfolg hing völlig von der Verfügbarkeit der ^{51}Cr -CTL-Ausschüttungsassays und Mäuseinzuchtstämmen ab; beides war zum Studium der Alloreaktivität entwickelt worden. Die Experimente standen im Zusammenhang mit einem experimentellen Gesamtsystem, das dazu verwendet wurde, die Fähigkeit zu einer T-Zell-Antwort, die Immunpathologie einer LCMV-Infektion und die Natur der CMI gegenüber *L. monocytogenes* und dem Ectromelia-Virus zu analysieren. Die örtliche intellektuelle Umgebung war sehr anregend und man konzentrierte sich enorm auf die zu diesem Zeitpunkt aktuelle Front der Immunologieforschung. Es war ein großer Vorteil, in diesen Tagen des Prä-Fax- und Prä-E-mail-Zeitalters in Australien isoliert zu sein, denn man hatte alle Zeit, die Dinge zu diskutieren und zu durchdenken. Wir erhielten offene und sachkundige Kritik, hatten die Freiheit und die Mittel, unsere eigenen Ideen zu verwirklichen, und bekamen volle Anerkennung für unsere Bemühungen. Jene unter uns, die eine gehobene Position in der Wissenschaft bekleiden, müssen alles erdenklich Mögliche tun, um sicherzustellen, daß vergleichbare Chancen und Umgebungsparameter für junge Wissenschaftler verfügbar bleiben.

Meine Karriere als Forscher wurde von den Steuerzahlern Australiens, Großbritanniens und der USA unterstützt, ferner von dem Nationalen Multiple Sklerose-Gesellschaften der USA und Australiens und der American Lebanese Syrian Associated Charities, die einen Großteil der Mittel für das St. Jude Children's Research Hospital zur Verfügung stellen. Ohne die Liebe und den Ansporn meiner Frau, Penny, die mein bester Freund und Kritiker ist, hätte ich nichts erreicht. Sehr viel verdanke ich meinen Studenten, Kollegen und Mitarbeitern in all den Jahren.

Eingegangen am 7. April 1997 [A 221]
Übersetzt von Dr. Marion Gurrath, Odenthal

Stichworte: Antigene · Immunologie · Nobel-Aufsatz · T-Zellen

- [1] „The neutralization of viruses“: S. Fazekas de St. Groth, *Adv. Virus Res.* **1962**, 9, 1.
- [2] „Three-dimensional structure of a complex of antibody with influenza virus neuraminidase“: P. M. Colman, W. G. Laver, J. N. Varghese, A. T. Baker, P. A. Tulloch, G. M. Air, R. G. Webster, *Nature* **1987**, 326, 358.
- [3] „T-cell-mediated immunopathology in viral infections“: P. C. Doherty, R. M. Zinkernagel, *Transplant. Rev.* **1974**, 19, 89.
- [4] „Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system“: R. M. Zinkernagel, P. C. Doherty, *Nature*, **1974**, 248, 701.
- [5] „Immunological surveillance against altered self components by sensitised T lymphocytes in lymphocytic choriomeningitis“: R. M. Zinkernagel, P. C. Doherty, *Nature* **1974**, 251, 547.
- [6] „A biological role for the major histocompatibility antigens“: P. C. Doherty, R. M. Zinkernagel, *Lancet* **1975**, 1, 1406.
- [7] „The clinical features and pathogenesis of mouse-pox (infectious ectromelia of mice)“: F. Fenner, *J. Pathol. Bacteriol.* **1948**, 4, 529.
- [8] „A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection“: F. M. Burnet, *Aust. J. Sci.* **1957**, 20: 67.
- [9] „Pathogenesis of rashes in virus diseases“: C. A. Mims, *Bacteriol. Rev.* **1966**, 30, 739.
- [10] „Cellular immunity“: G. B. Mackaness, R. V. Blanden, *Prog. Allergy*. **1967**, 11, 89.
- [11] „Mechanisms of recovery from a generalized viral infection: mousepox. I. The effects of anti-thymocyte serum“: R. V. Blanden, *J. Exp. Med.* **1970**, 132, 1035.
- [12] „Mechanisms of recovery from a generalized viral infection: mousepox. II. Passive transfer of recovery mechanisms with immune lymphoid cells“: R. V. Blanden, *J. Exp. Med.* **1971**, 133, 1074.
- [13] „Mechanisms of recovery from a generalized viral infection: mousepox. 3. Regression infectious foci“: R. V. Blanden, *J. Exp. Med.* **1971**, 133, 1090.
- [14] „Quantitative studies of the inflammatory process in fatal viral meningoencephalitis“: P. C. Doherty, *Am. J. Pathol.* **1973**, 73, 607.
- [15] „Higher frequency of a protein band in the cerebrospinal fluid from scrapie mice“: P. A. Merz, G. S. Merz, R. I. Carp, *Res. Vet. Sci.* **1973**, 14, 392.
- [16] „Protective effect of neonatal thymectomy on mouse LCM infection“: W. P. Rowe, P. H. Black, R. H. Levey, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1963**, 14, 248.
- [17] „Protection against the lethal effects of lymphocytic choriomeningitis virus in mice by neonatal thymectomy“: J. Hotchin, E. Sikora, *Nature*, **1964**, 202, 214.
- [18] „Immunopathogenesis of acute central nervous system disease produced by lymphocytic choriomeningitis virus. II. Adoptive immunization of virus carriers“: D. H. Gilden, G. A. Cole, N. Nathanson, *J. Exp. Med.* **1972**, 135, 874.
- [19] „Cell-mediated cytotoxicity, allograft rejection, and tumor immunity“: J. C. Cerottini, K. T. Brunner, *Adv. Immunol.* **1974**, 18, 67.
- [20] „Tissue injury in lymphocytic choriomeningitis viral infection: virus-induced immunologically specific release of a cytotoxic factor from immune lymphoid cells“: M. B. A. Oldstone, F. J. Dixon, *Virology* **1970**, 42, 805.
- [21] „Studies on cell-mediated immunity to lymphocytic choriomeningitis virus in mice“: O. Marker, M. Volkert, *J. Exp. Med.* **1973**, 137, 1511.
- [22] „Cytotoxic thymus-derived lymphocytes in cerebrospinal fluid of mice with lymphocytic choriomeningitis“: R. M. Zinkernagel, P. C. Doherty, *J. Exp. Med.* **1973**, 138, 1266.
- [23] „Cell interactions between histoincompatible T and B lymphocytes. The H-2 gene complex determines successful physiologic lymphocyte interactions“: D. H. Katz, T. Hamaoka, M. E. Dorf, B. Benacerraf, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1973**, 70, 2624.
- [24] „Function of macrophages in antigen recognition by guinea pig T lymphocytes. I. Requirement for histocompatible macrophages and lymphocytes“: A. S. Rosenthal, E. M. Shevach, *J. Exp. Med.* **1973**, 138, 1194.
- [25] „The histocompatibility-linked immune response genes“: B. Benacerraf, D. H. Katz, *Adv. Cancer Res.* **1975**, 21, 121.
- [26] „Biology of the Mouse Histocompatibility-2 Complex“: J. Klein, *Springer, Berlin*, **1975**.
- [27] „Histocompatibility-linked genetic control of disease susceptibility. Murine lymphocytic choriomeningitis virus infection“: M. B. Oldstone, F. J. Dixon, G. F. Mitchell, H. O. McDevitt, *J. Exp. Med.* **1973**, 137, 1201.
- [28] „Peritoneal macrophages as target cells for measuring virus-specific T cell mediated cytotoxicity in vitro“: R. M. Zinkernagel, P. C. Doherty, *J. Immunol. Methods* **1975**, 8, 263.
- [29] „H-2 compatibility is required for T-cell-mediated lysis of target cells infected with lymphocytic choriomeningitis virus“: P. C. Doherty, R. M. Zinkernagel, *J. Exp. Med.* **1975**, 141, 502.
- [30] „Cytotoxic T-cell responses in mice infected with influenza and vaccinia viruses vary in magnitude with H-2 genotype“: P. C. Doherty, W. E. Biddison, J. R. Bennink, B. B. Knowles, *J. Exp. Med.* **1978**, 148, 534.
- [31] „Ir-genes in H-2 regulate generation of anti-viral cytotoxic T cells. Mapping to K or D and dominance of unresponsiveness“: R. M. Zinkernagel, A. Althage, S. Cooper, G. Kreeb, P. A. Klein, B. Sefton, L. Flaherty, J. Stimpfling, D. Shreffler, J. Klein, *J. Exp. Med.* **1978**, 148, 592.
- [32] „Cell-mediated cytotoxicity against ectromelia virus-infected target cells. III. Role of the H-2 gene complex“: I. D. Gardner, N. A. bowern, R. V. Blanden, *Eur. J. Immunol.* **1975**, 5, 122.
- [33] „Genes required for cytotoxicity against virus-infected target cells in K and D regions of H-2 complex“: R. V. Blanden, P. C. Doherty, M. B. Dunlop, I. D. Gardner, R. M. Zinkernagel, C. S. David, *Nature* **1975**, 254, 269.
- [34] „Specificity of virus-immune effector T cells for H-2K or H-2D compatible interactions: implications for H-antigen diversity“: P. C. Doherty, R. V. Blanden, R. M. Zinkernagel, *Transplant. Rev.* **1976**, 29, 89.
- [35] „Cellular immune recognition and the biological role of Major transplantation antigens (Nobel Lecture)“: R. M. Zinkernagel, **1996**, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 2026; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, Nr. 18.
- [36] „The major histocompatibility complex determines susceptibility to cytotoxic T cells directed against minor histocompatibility antigens“: M. J. Bevan, *J. Exp. Med.* **1975**, 142, 1349.
- [37] „In vitro cell-mediated immune response to the male specific (H-Y) antigen in mice“: R. D. Gordon, E. Simpson, L. E. Samelson, *J. Exp. Med.* **1975**, 142, 1108.
- [38] „Enhanced immunological surveillance in mice heterozygous at the H-2 gene complex“: P. C. Doherty, R. M. Zinkernagel, *Nature* **1975**, 256, 50.

- [39] „Immunological surveillance of tumors in the context of major histocompatibility complex restriction of T cell function“: P. C. Doherty, B. B. Knowles, P. J. Wettstein, *Adv. Cancer Res.* **1984**, 42, 1.
- [40] „Immunological surveillance in neoplasia“: F. M. Burnet, *Transplant. Rev.* **1971**, 7, 3.
- [41] „The response to H-2-different virus-infected cells is mediated by long-lived T lymphocytes and is diminished by prior virus priming in a syngeneic environment“: J. R. Bennink, P. C. Doherty, *Cell. Immunol.* **1981**, 61, 220.
- [42] „Historical developments in understanding the function of class I MHC genes“: P. C. Doherty in *H-2 Antigens, Genes Molecules and Functions* (Hrsg.: C. S. David), NATO ASI series, Plenum Press, New York, **1987**, S. 341.
- [43] „The epitopes of influenza nucleoprotein recognized by cytotoxic T lymphocytes can be defined with short synthetic peptides“: A. R. Townsend, J. Rothbard, F. M. Gotch, G. Bahadur, D. Wraith, A. J. McMichael, *Cell*, **1986**, 44, 959.
- [44] „The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens“: P. J. Bjorkman, M. A. Saper, B. Samraoui, W. S. Bennett, J. L. Strominger, D. C. Wiley, *Nature* **1987**, 329, 512.
- [45] „T cell receptor gene diversity and selection“: M. M. Davis, *Annu. Rev. Biochem.* **1990**, 59, 475.
- [46] „An $\alpha\beta$ T cell receptor structure at 2.5 Å and its orientation in the TCR-MHC complex“: K. C. Garcia, M. Degano, R. L. Stanfield, A. Brunmark, M. R. Jackson, P. A. Peterson, L. Teyton, I. A. Wilson, *Science* **1996**, 274, 209.
- [47] „Structure of the complex between human T cell receptor, viral peptide and HLA-A2“: D. N. Garboczi, P. Ghosh, Q. R. Fan, W. E. Biddison, D. C. Wiley, *Nature* **1996**, 384, 134.
- [48] „hsp65 mRNA⁺ macrophages and $\gamma\delta$ T cells in influenza virus-infected mice depleted of the CD4⁺ and CD8⁺ lymphocyte subsets“: W. Allan, S. R. Carding, M. Eichelberger, P. C. Doherty, *Microb. Pathog.* **1993**, 14, 75.
- [49] „Macrophage activation in mice infected with ectromelia or lymphocytic choriomeningitis viruses“: R. V. Blanden, C. A. Mims, *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* **1973**, 51, 393.
- [50] „Phenotypic and functional analysis of the cellular response in regional lymphoid tissue during an acute virus infection“: F. Lynch, P. C. Doherty, R. Ceredig, *J. Immunol.* **1989**, 142, 3592.
- [51] „Capacity of sensitized thymus-derived lymphocytes to induce fatal lymphocytic choriomeningitis is restricted by the H-2 gene complex“: P. C. Doherty, R. M. Zinkernagel, *J. Immunol.* **1975**, 114, 30.
- [52] „Inflammatory process in murine lymphocytic choriomeningitis is maximal in H-2K or H-2D compatible interactions“: P. C. Doherty, M. B. Dunlop, C. R. Parish, R. M. Zinkernagel, *J. Immunol.* **1976**, 117, 187.
- [53] „Viral cross talk: Intracellular inactivation of the hepatitis B virus during an unrelated viral infection of the liver“: L. G. Guidotti, P. Borrow, M. V. Hobbs, B. Matzke, J. Gresser, M. B. A. Oldstone, F. V. Chisari, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 4589.
- [54] „Role of the major histocompatibility complex in targeting effector T cells into a site of virus infection“: P. C. Doherty, J. E. Allan, *Eur. J. Immunol.* **1986**, 16, 1237, 16, 1646.
- [55] „Immunogenetic analysis of cellular interactions governing the recruitment of T lymphocytes and monocytes in lymphocytic choriomeningitis virus-induced immunopathology“: P. C. Doherty, R. Ceredig, J. E. Allan, *Clin. Immunol. Immunopathol.* **1988**, 47, 19.
- [56] „Dissection of an inflammatory process induced by CD8⁺ T cells“: P. C. Doherty, J. E. Allan, F. Lynch, R. Ceredig, *Immunol. Today* **1990**, 11, 55.
- [57] „Cytotoxicity mediated by T cells and natural killer cells is greatly impaired in perforin-deficient mice“: D. Kagi, B. Ledermann, K. Burki, P. Seiler, B. Odermatt, K. J. Olsen, E. R. Podack, R. M. Zinkernagel, H. Hengartner, *Nature* **1994**, 369, 31.
- [58] „Immune response against lymphocytic choriomeningitis virus infection in mice without CD8 expression“: W. P. Fung-Leung, T. M. Kundig, R. M. Zinkernagel, T. W. Mak, *J. Exp. Med.* **1991**, 174, 1425.
- [59] „Lymphocytic choriomeningitis virus induces a chronic wasting disease in mice lacking class I major histocompatibility complex glycoproteins“: P. C. Doherty, S. Hou, P. J. Southern, *J. Neuroimmunol.* **1993**, 46, 11.
- [60] „Antiviral immune responses of lymphocytic choriomeningitis virus-infected mice lacking CD8⁺ T lymphocytes because of disruption of the beta 2-microglobulin gene“: F. Lehmann-Grube, J. Lohler, O. Utermohlen, C. Gegin, *J. Virol.* **1993**, 67, 332.
- [61] „Beta 2-microglobulin deficient mice lack CD4–8⁺ cytolytic T cells“: M. Zijlstra, M. Bix, N. E. Simister, J. M. Loring, D. H. Raulet, R. Jaenisch, *Nature*, **1990**, 344, 742.
- [62] „Specific immune lysis of paramyxovirus-infected cells by H-2-compatible thymus-derived lymphocytes“: P. C. Doherty, R. M. Zinkernagel, *Immunology* **1976**, 31, 27.
- [63] „Lysis mediated by T cells and restricted by H-2 antigen of target cells infected with vaccinia virus“: U. Koszinowski, H. Ertl, *Nature* **1975**, 255, 552.
- [64] „Delayed clearance of Sendai virus in mice lacking class I MHC-restricted CD8⁺ T cells“: S. Hou, P. C. Doherty, M. Zijlstra, R. Jaenisch, J. M. Katz, *J. Immunol.* **1992**, 149, 1319.
- [65] „Host response to Sendai virus in mice lacking class II major histocompatibility complex glycoproteins“: S. Hou, X. Y. Mo, L. Hyland, P. C. Doherty, *J. Virol.* **1995**, 69, 1429.
- [66] „Evolution and ecology of influenza A viruses“: R. G. Webster, W. J. Bean, O. T. Gorman, T. M. Chambers, Y. Kawaoka, *Microbiol. Rev.* **1992**, 56, 152.
- [67] „Generation of both cross-reactive and virus-specific T-cell populations after immunization with serologically distinct influenza A viruses“: R. B. Effros, P. C. Doherty, W. Gerhard, J. Bennink, *J. Exp. Med.* **1977**, 145, 557.
- [68] „Heterogeneity of the cytotoxic response of thymus-derived lymphocytes after immunization with influenza viruses“: P. C. Doherty, R. B. Effros, J. Bennink, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1977**, 74, 1209.
- [69] „Cytotoxic T cells kill influenza virus infected cells but do not distinguish between serologically distinct type A viruses“: H. J. Zweerink, S. A. Courtneidge, J. J. Skehel, M. J. Crumpton, B. A. Askonas, *Nature* **1977**, 267, 354.
- [70] „MHC-restricted cytotoxic T cells: studies on the biological role of polymorphic major transplantation antigens determining T-cell restriction-specificity, function, and responsiveness“: R. M. Zinkernagel, P. C. Doherty, *Adv. Immunol.* **1979**, 27, 51.
- [71] „Characteristics of secondary cytotoxic T-cell responses in mice infected with influenza A viruses“: R. B. Effros, J. Bennink, P. C. Doherty, *Cell. Immunol.* **1978**, 36, 345.
- [72] „The roles of influenza virus haemagglutinin and nucleoprotein in protection: analysis using vaccinia virus recombinants“: M. E. Andrew, B. E. Coupar, D. B. Boyle, G. L. Ada, *Scand. J. Immunol.* **1987**, 25, 21.
- [73] „Recombinant vaccinia viruses and the development of immunization strategies using influenza virus“: P. C. Doherty, W. Allan, D. B. Boyle, B. E. Coupar, M. E. Andrew, *J. Infect. Dis.* **1989**, 159, 1119.
- [74] „Primary pulmonary cytotoxic T lymphocytes induced by immunization with a vaccinia virus recombinant expressing influenza A virus nucleoprotein peptide do not protect mice against challenge“: C. M. Lawson, J. R. Bennink, N. P. Restifo, J. W. Yewdell, B. R. Murphy, *J. Virol.* **1994**, 68, 3505.
- [75] „Experiments and speculation on antiviral specificity of T and B cells“: R. M. Zinkernagel, K. L. Rosenthal, *Immunol. Rev.* **1981**, 58, 131.
- [76] „The control of specificity of cytotoxic T lymphocytes by the major histocompatibility complex (AG-B) in rats and identification of a new alloantigen system showing no AG-B restriction“: A. Marshak, P. C. Doherty, D. B. Wilson, *J. Exp. Med.* **1977**, 146, 1773.
- [77] „HLA restriction of cell-mediated lysis of influenza virus-infected human cells“: A. J. McMichael, A. Tig, H. J. Zweerink, B. A. Askonas, *Nature* **1977**, 270, 524.
- [78] „Cytotoxic T cell recognition of the influenza nucleoprotein and haemagglutinin expressed in transfected mouse L cells“: A. R. Townsend, A. J. McMichael, N. P. Carter, J. A. Huddleston, G. G. Brownlee, *Cell* **1984**, 39, 13.
- [79] „Recombinant vaccinia viruses as vectors for studying T lymphocyte specificity and function“: J. R. Bennink, J. W. Yewdell, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **1990**, 163, 153.
- [80] „In vivo effector function of influenza virus-specific cytotoxic T lymphocyte clones is highly specific“: A. E. Lukacher, V. L. Braciale, T. J. Braciale, *J. Exp. Med.* **1984**, 160, 814.
- [81] „Flow cytometric analysis of pulmonary lymphocytes from mice infected with respiratory syncytial virus“: P. J. Openshaw, *Clin. Exp. Immunol.* **1989**, 75, 324.
- [82] „Roles of alpha beta and gamma delta T cell subsets in viral immunity“: P. C. Doherty, W. Allan, M. Eichelberger, S. R. Carding, *Annu. Rev. Immunol.* **1992**, 10, 123.
- [83] „Immune response to viruses“: P. C. Doherty, in *Clinical Immunology, Principles and Practice*, (Hrsg.: R. R. Rich, T. A. Fleischer, B. D. Schwartz, W. T. Shearer, W. Strober), Mosby, St. Louis, **1996**, S. 535.
- [84] „Influenza virus RNA in the lung and lymphoid tissue of immunologically intact and CD4-depleted mice“: M. C. Eichelberger, M. Wang, W. Allan, R. G. Webster, P. C. Doherty, *J. Gen. Virol.* **1991**, 72, 1695.
- [85] „Establishment and persistence of virus-specific CD4⁺ and CD8⁺ T cell memory“: P. C. Doherty, D. J. Topham, R. A. Tripp, *Immunol. Rev.* **1996**, 150, 23.
- [86] „Clearance of Sendai virus by CD8⁺ T cells requires direct targeting to virus-infected epithelium“: S. Hou, P. C. Doherty, *Eur. J. Immunol.* **1995**, 25, 111.
- [87] „Clearance of influenza virus respiratory infection in mice lacking class I major histocompatibility complex-restricted CD8⁺ T cells“: M. Eichelberger, W. Allan, M. Zijlstra, R. Jaenisch, P. C. Doherty, *J. Exp. Med.* **1991**, 174, 875.
- [88] „Transgenic mice lacking class I major histocompatibility complex-restricted T cells have delayed viral clearance and increased mortality after influenza virus challenge“: B. S. Bender, T. Croghan, L. Zhang, P. A. Small, Jr., *J. Exp. Med.* **1992**, 175, 1143.
- [89] „ β 2-microglobulin-deficient mice can be protected against influenza A infection by vaccination with vaccinia-influenza recombinants expressing haemagglutinin and neuraminidase“: S. L. Epstein, J. A. Mispelon, C. M. Lawson, E. K. Subbarao, M. Connors, B. R. Murphy, *J. Immunol.* **1993**, 150, 5484.
- [90] „Immune CD4⁺ T cells promote the clearance of influenza virus from major histocompatibility complex class II-/respiratory epithelium“: D. J. Topham, R. A. Tripp, S. R. Sarawar, M. Y. Sangster, P. C. Doherty, *J. Virol.* **1996**, 70, 1288.

- [91] „Virus-neutralizing antibodies of immunoglobulin G (IgG) but not of IgM or IgA isotypes can cure influenza virus pneumonia in SCID mice“: G. Paladino, K. Mozdzanowska, G. Washko, W. Gerhard, *J. Virol.* **1995**, *69*, 2075.
- [92] „Louping-ill encephalomyelitis in the sheep. IV. Nature of the perivascular inflammatory reaction“: P. C. Doherty, H. W. Reid, W. Smith, *J. Comp. Pathol.* **1971**, *81*, 545.
- [93] „Louping-ill encephalomyelitis in the sheep“: P. C. Doherty, H. W. Reid, *J. Comp. Pathol.* **1971**, *81*, 531.
- [94] „Louping-ill encephalomyelitis in the sheep. 3. Immunoglobulins in cerebrospinal fluid“: H. W. Reid, P. C. Doherty, A. M. Dawson, *J. Comp. Pathol.* **1971**, *81*, 537.
- [95] „Virus specificity and isotype expression of intraparenchymal antibody-secreting cells during Sindbis virus encephalitis in mice“: W. R. Tyor, D. E. Griffin, *J. Neuroimmunol.* **1993**, *48*, 37.
- [96] „Phenotypic analysis of the inflammatory exudate in murine lymphocytic choriomeningitis“: R. Ceredig, J. E. Allan, Z. Tabi, F. Lynch, P. C. Doherty, *J. Exp. Med.* **1987**, *165*, 1539.
- [97] „Contributions of host and donor T cells to the inflammatory process in murine lymphocytic choriomeningitis“: P. C. Doherty, J. E. Allan, R. Ceredig, *Cell. Immunol.* **1988**, *116*, 475.
- [98] „Cellular events in the lymph node and lung of mice with influenza. Consequences of depleting CD4⁺ T cells“: W. Allan, Z. Tabi, A. Cleary, P. C. Doherty, *J. Immunol.* **1990**, *144*, 3980.
- [99] „Recruitment and proliferation of CD8⁺ T cells in respiratory virus infections“: R. A. Tripp, S. Hou, A. McMickle, J. Houston, P. C. Doherty, *J. Immunol.* **1995**, *154*, 6013.
- [100] „Virus-specific CD8⁺ T-cell memory determined by clonal burst size“: S. Hou, L. Hyland, K. W. Ryan, A. Portner, P. C. Doherty, *Nature* **1994**, *369*, 652.
- [101] „Characteristics of the influenza virus-specific CD8⁺ T cell response in mice homozygous for disruption of the H-21A^b gene“: R. A. Tripp, S. R. Sarawar, P. C. Doherty, *J. Immunol.* **1995**, *155*, 2955.
- [102] „Environmental modulation of the autonomy of cytotoxic T lymphocytes“: H. Bodmer, G. Obert, S. Chan, C. Benoist, D. Mathis, *Eur. J. Immunol.* **1993**, *23*, 1649.
- [103] „Reciprocal stimulation of negatively selected high-responder and low-responder T cells in virus-infected recipients“: J. R. Bennink, P. C. Doherty, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **1979**, *76*, 3482.
- [104] „How selective is the transporter associated with antigen processing?“: M. J. Androwlewicz, P. Creswell, *Immunity* **1996**, *5*, 1.
- [105] „Limiting dilution analysis of the specificity of influenza-immune cytotoxic T cells“: J. A. Owen, M. Allouche, P. C. Doherty, *Cell. Immunol.* **1982**, *67*, 49.
- [106] „Limit-dilution analysis of weak influenza-immune T cell responses associated with H-2K^b and H-2D^b“: M. Allouche, J. A. Owen, P. C. Doherty, *J. Immunol.* **1982**, *129*, 689.
- [107] „Extrathymic tolerance of mature T cells: clonal elimination as a consequence of immunity“: S. Webb, C. Morris, J. Sprent, *Cell* **1990**, *63*, 1249.
- [108] „Profound deletion of mature T cells in vivo by chronic exposure to exogenous superantigen“: J. E. McCormack, J. E. Callahan, J. Kappler, P. C. Marrack, *J. Immunol.* **1993**, *150*, 3785.
- [109] „Temporal loss of the activated L-selectin-low phenotype for virus-specific CD8⁺ memory T cells“: R. A. Tripp, S. Hou, P. C. Doherty, *J. Immunol.* **1995**, *154*, 5870.
- [110] „Immunological memory and protective immunity: Understanding their relation“: R. Ahmed, D. Gray, *Science* **1996**, *272*, 54.
- [111] „Independent populations of primed F1 guinea pig T lymphocytes respond to antigen-pulsed parental peritoneal exudate cells“: W. E. Paul, E. M. Shevach, S. Pickeral, D. W. Thomas, A. S. Rosenthal, *J. Exp. Med.* **1977**, *145*, 618.
- [112] „Laser light suicide of proliferating virus-specific CD8⁺ T cells in an in vivo response“: R. A. Tripp, J. M. Lahti, P. C. Doherty, *J. Immunol.* **1995**, *155*, 3719.
- [113] „Turnover of naive- and memory-phenotype T cells“: D. F. Tough, J. Sprent, *J. Exp. Med.* **1994**, *179*, 1127.
- [114] „Lymphocyte lifespans: homeostasis, selection and competition“: A. A. Freitas, B. B. Rocha, *Immunol. Today* **1993**, *14*, 25.
- [115] „Tolerance, danger, and the extended family“: P. Matzinger, *Annu. Rev. Immunol.* **1994**, *12*, 991.
- [116] „HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span and viral generation time“: A. S. Perelson, A. U. Neumann, M. Markowitz, J. M. Leonard, D. D. Ho, *Science* **1996**, *271*, 1582.
- [117] *Complexity: the emerging science at the edge of chaos*, M. W. Waldrop, Simon and Schuster, New York, **1992**.
- [118] „Immunity to viruses“: P. C. Doherty, *The Immunologist* **1995**, *3*, 231.
- [119] „Quantitative analysis of influenza virus-specific CD4⁺ T cell memory in the absence of B cells and Ig“: D. J. Topham, R. A. Tripp, A.-M. Hamilton-Easton, S. R. Sarawar, P. C. Doherty, *J. Immunol.* **1996**, *157*, 2947.
- [120] „Progressive loss of CD8⁺ T cell-mediated control of a γ -herpesvirus in the absence of CD4⁺ T cells“: R. D. Cardin, J. W. Brooks, S. R. Sarawar, P. C. Doherty, *J. Exp. Med.* **1996**, *184*, 863.
- [121] „Partitioning of responder CD8⁺ T cells in lymph node and lung of mice with Sendai virus pneumonia by LECAM-1 and CD45RB phenotype“: S. Hou, P. C. Doherty, *J. Immunol.* **1993**, *150*, 5494.