

Antiinflammatorische und neuroprotektive Wirkungen des Tee-Inhaltsstoffes EGCG: Mögliche Rolle bei der Behandlung der Multiplen Sklerose

Dr. med. Orhan Aktas, Institut für Neuroimmunologie, Charité, Berlin

Einleitung

Die Multiple Sklerose (MS) ist mit einer Prävalenz von etwa 70–100 Kranken auf 100.000 Einwohner die in unseren Breitengraden häufigste chronisch entzündliche Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS), die bereits im jungen Erwachsenenalter zu tief greifenden und andauernden neurologischen Behinderungen führen kann. Zu Beginn der Erkrankung weisen ca. 90 Prozent der Patienten die schubförmig-remittierende Verlaufsform auf. Klinisch ist sie durch mehrwöchig andauernde Episoden mit neurologischen Ausfällen charakterisiert, die auf das Auftreten von fokalen Entzündungsherden im ZNS zurückgeführt werden. Diese Episoden lassen in unterschiedlichem Ausmaß nach und treten über einen Zeitraum von vielen Jahren wiederholt auf. Häufig leiden die Betroffenen unter Sehstörungen, Missempfindungen sowie Sprach- und Gleichgewichtsstörungen. Im weiteren Verlauf können Lähmungen von Armen und Beinen sowie Störungen der Blasenfunktion auftreten. In der Anfangsphase der Erkrankung, wenn die Symptome und klinischen Befunde auf eine Läsion nur an einer Stelle des Nervensystems hindeuten, kann die Diagnose schwierig und unsicher sein. Denn die Patienten klagen in frühen Krankheitsstadien häufig über eher unspezifische Beschwerden wie übermäßige Ermüdung oder Sensibilitätsstörungen, die leicht als Depression oder eine psychosomatische Reaktion fehlinterpretiert werden. Daher stützt sich die MS-Frühd Diagnose auf den Nachweis des entzündlich veränderten Liquors und von Läsionen in der kernspintomographischen Bildgebung (Magnetresonanztomographie, MRT).

Pathogenese der Multiplen Sklerose

Als Ursache der Multiplen Sklerose wird eine fehlgeleitete Reaktion des Immunsystems angenommen, die sich bei genetisch suszeptiblen (empfindlichen) Menschen gegen die Markscheiden, die Umhüllung von Nervenfasern (Axonen), richtet. Im Mittelpunkt der Initiierung von Krankheitsschüben stehen entzündungsfördernde (proinflammatorische) T-Lymphozyten vom sogenannten T-Helfer-1 (Th1)-Typ. Daten aus dem Tiermodell der MS, der experimentell autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE), führten zu folgender Hypothese: Die EAE

in Nagerstämmen lässt sich sowohl durch die Immunisierung mit Bestandteilen der Markscheide als auch durch den alleinigen Transfer von Markscheidenreaktiven T-Lymphozyten auslösen. Zusätzlich zeigen molekularbiologische Untersuchungen, dass bei MS-Patienten vor dem Auftreten eines Krankheitsschubes außerhalb des ZNS eine Expansion solcher gegen die Markscheide gerichteter T-Lymphozyten stattfindet.

Es stellt sich die Frage: Wie findet die Bildung der für die MS charakteristischen entzündlichen Läsionen im ZNS statt? Nach ihrer Aktivierung überqueren T-Lymphozyten die Blut-Hirn-Schranke und gelangen in das ZNS-Kompartiment. Hier begegnen sie ihren spezifischen Zielstrukturen, Bestandteilen der Markscheide, und werden erneut aktiviert. Durch diese Reaktivierung initiieren die T-Lymphozyten eine gegen die Markscheide gerichtete Immunreaktion, bei der sie weitere Immunzellen (Makrophagen, B-Zellen) rekrutieren. In der Folge kommt es zu der für die MS charakteristischen Entmarkung (Demyelinisierung).

Paradigmenwechsel bei der Multiplen Sklerose

Dieses pathogenetische Konzept der MS wurde in der jüngsten Vergangenheit an entscheidenden Stellen erweitert. In den Mittelpunkt rückte die Tatsache, dass in der MS und in der EAE früh im Krankheitsverlauf neben der Entmarkung auch eine Schädigung der Axone (Nervenfasern) selbst auftritt (1,2). Die Renaissance der axonalen Pathologie ist bemerkenswert, da sie bereits vom Erstbeschreiber der MS, Jean-Martin Charcot, Ende des 19. Jahrhunderts dokumentiert wurde. Diese Erkenntnisse, die eine plausible Erklärung für die irreversiblen Behinderungen von MS-Patienten liefern, gerieten allerdings in Vergessenheit und wurden erst vor wenigen Jahren wieder entdeckt (Übersicht bei [3]). Mittlerweile ist bekannt, dass in der MS und im EAE-Modell nicht nur die beschriebene axonale Schädigung auftritt, sondern auch Neurone selbst untergehen (4–6). Diese entzündliche Neurodegeneration ist – wie spezielle MRT-Verfahren zeigen – keinesfalls nur auf späte Krankheitsstadien der MS beschränkt. Tatsächlich weisen MS-Patienten bereits zum Zeitpunkt der Diagnosestellung Auffälligkeiten der grauen Substanz auf, die als ein Hinweis auf eine direkte, primäre neuronale Störung aufgefasst werden (7). Ebenfalls als Zeichen für die neuronale Beteiligung sind früh im Krankheitsverlauf auftretende kognitive Beeinträchtigungen (8), elektroenzephalographische Abweichungen (9) und eine bis zu zehnfach erhöhte Inzidenz epileptischer Anfälle zu werten (10). Offensichtlich sind bereits in Anfangsstadien der Multiplen Sklerose ausgeprägte neurodegenerative Veränderungen vorhanden, die als ein wesentlicher Faktor für die tatsächlichen neurologischen Defizite von Patienten angesehen werden können (11–13). Das

bedeutet, dass die MS, die in der neurologischen Krankheitslehre als die klassische chronisch-entzündliche Erkrankung des ZNS eingestuft (und primär neurodegenerativen Erkrankungen wie dem Morbus Parkinson gegenübergestellt) wird, tatsächlich von Beginn an als eine entzündliche *und* neurodegenerative Erkrankung zu betrachten ist.

Dieser Paradigmenwechsel hat Konsequenzen für die Behandlung von MS-Patienten: Aus therapeutischer Sicht ist es wünschenswert, sowohl die T-Zell-vermittelte Entzündungsreaktion als auch den Untergang von Nervenzellen zu verhindern. Allerdings sind die bislang etablierten Behandlungskonzepte ausschließlich gegen die Entzündungsreaktion ausgerichtet und vermögen langfristig das Auftreten von bleibenden neurologischen Behinderungen nicht zu verhindern. Daher werden derzeit neue therapeutische Strategien gesucht, die sowohl die Entzündungsprozesse eindämmen als auch der Neurodegeneration entgegenwirken.

Epigallocatechin-3-Gallat (EGCG) – Wirkung im Tiermodell der MS

Ein möglicher Kandidat, der die dargestellten Kriterien einer an der Pathogenese orientierten Therapie erfüllt, ist die Substanz Epigallocatechin-3-Gallat (EGCG). In mehreren unabhängigen Vorstudien wurde für diesen Hauptinhaltsstoff des grünen Tees ein günstiger Effekt auf Entzündungsprozesse beschrieben. So hemmt EGCG die Synthese des Entzündungsmediators Tumornekrosefaktor (TNF)-alpha (14) und die Aktivierung von neutrophilen Granulozyten (15). Zudem ist es im Tiermodell bei der rheumatoiden Arthritis, die mit einer T-Lymphozyten-vermittelten Zerstörung von Gelenken einhergeht, wirksam (16). Des Weiteren wurde in gesonderten Untersuchungen eine von der Entzündungshemmung unabhängige neuroprotektive Wirkung von EGCG beschrieben, z. . im Modell der Parkinson-Erkrankung (17) und beim experimentellen Schlaganfall (18). Daher liegt die Vermutung nahe, dass EGCG auch bei der Multiplen Sklerose eine günstige Wirkung entfalten könnte.

In unserer Studie haben wir deshalb das EAE-Modell der MS bemüht, um die Effekte von EGCG zu untersuchen (19). Epigallocatechin-3-Gallat wurde als Reinsubstanz vom Chemikaliengroßhandel bezogen und den Tieren täglich in definierten Dosierungen oral verabreicht. In der Tat zeigte sich, dass die Vorbehandlung mit EGCG im Sinne eines präventiven Ansatzes dafür sorgt, den Ausbruch der MS-Modellerkrankung signifikant abzumildern. Noch wichtiger ist allerdings die in weiteren Experimenten gewonnene Erkenntnis, dass EGCG – auch therapeutisch verabreicht – einen günstigen Effekt hat: An EAE erkrankte Tiere, die nach dem ersten Krankheitsschub erstmals EGCG erhielten, waren im

Vergleich zur Placebo-Gruppe vor dem Auftreten weiterer Schübe geschützt. Dieses Versuchsszenario ist relevant für eine mögliche klinische Anwendung, da es der Situation von MS-Patienten entspricht, deren Krankheit erst nach dem ersten

Krankheitsschub diagnostiziert und behandelt wird. Weitere immunologische Untersuchungen zeigten, dass die EGCG-Behandlung in der EAE zu einer Abschwächung der pathogenen T-Lymphozyten-Reaktion führte. Die T-Lymphozyten proliferierten weniger stark und wiesen gleichzeitig eine verminderte Kapazität zur TNF-alpha-Synthese auf. Parallel zeigte die histopathologische Auswertung, dass das Ausmaß der neuronalen Schädigung bei den behandelten Tieren reduziert war: EGCG führte zu einer Verminderung der axonalen Schädigung und der neuronalen Apoptose (Zelltod).

Basierend auf diesen mit Mäusen gewonnenen *In-vivo*-Daten haben wir in einem nächsten Schritt die zugrunde liegenden Mechanismen *in vitro* untersucht. An humanen Markscheiden-reaktiven T-Lymphozyten konnten wir nachweisen, dass EGCG intrazellulär die Aktivität des proinflammatorischen Transkriptionsfaktors nuclear factor (NF)-kappaB hemmt. NF-kappaB ist ein für die Initiierung und Aufrechterhaltung von Entzündungsreaktionen essenzieller Faktor, der die Expression zahlreicher Entzündungsmediatoren steuert. Gleichzeitig hemmt EGCG die Aktivität der sogenannten *cyclin-dependent kinase* (CDK) 4, die für den Zellzyklus verantwortlich ist. Unseren Studien nach werden diese immunologischen Effekte durch die Wirkung von EGCG auf das 20S/26S Proteasom-System vermittelt, das in der Zelle für den Abbau von regulatorischen Molekülen zuständig ist. So hemmt EGCG den Proteasom-abhängigen Abbau von I-kappaB, einem endogenen Inhibitor des NF-kappaB, und sorgt damit für eine anhaltende NF-kappaB-Suppression. Diese Beobachtungen weisen auf eine bislang nicht bekannte Modulation von intrazellulären Signalkaskaden in aktivierten Immunzellen hin, die die antiinflammatorische Wirkung von EGCG erklärt.

Allerdings können diese entzündungshemmenden Mechanismen nicht hinreichend die gleichzeitig nachweisbare neuroprotektive Wirkung von EGCG erklären. Der *in vivo* im EAE-Modell manifeste Schutz von Nervenzellen war auch in korrespondierenden experimentellen *In-vitro*-Ansätzen nachweisbar: In lebenden organotypischen Hirnschnittkulturen bewahrte EGCG dosisabhängig Neurone vor der toxischen Wirkung von N-Methyl-D-Aspartat (NMDA), einem Glutamat-Agonisten, sowie vor dem Todesliganden *TNF-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL). Im Gegensatz zu den Befunden in T-Lymphozyten war jedoch keine Hemmung des NF-kappaB-Signalweges nachweisbar. Anscheinend unterscheiden sich die von EGCG beeinflussten intrazellulären Signalkaskaden bei Immunzellen und Neuronen. Daraus lässt sich ableiten, dass die pharmakologischen Effekte von

EGCG spezifisch sind für den jeweiligen Zelltyp. In der Tat stellte sich heraus, dass die gesonderten neuroprotektiven Wirkungen von EGCG auf die charakteristischen antioxidativen Eigenschaften dieses Flavanoids zurückzuführen sind: EGCG hemmte in den Nervenzellen die Bildung von reaktiven Sauerstoffradikalen und schützte sie damit vor dem Untergang.

Zusammenfassung und Ausblick

Epigallocatechin-3-Gallat (EGCG) ist eine Natursubstanz aus der Gruppe der Flavanoide, die vor allem in Zubereitungen von grünem Tee enthalten ist. Unseren Ergebnissen nach kann EGCG offensichtlich sowohl ein fehlgeleitetes Immunsystem drosseln, als auch Neurone vor schädlichen Einflüssen des Immunsystems schützen. Die Ergebnisse beruhen auf der Wirksamkeit der Substanz im Tiermodell der MS und in Kulturen von menschlichen Immun- und Nervenzellen. Damit liegt mit EGCG eine Substanz vor, die oral verabreicht über unabhängige immunmodulatorische und neuroprotektive Eigenschaften verfügt. So könnte EGCG die zerstörerischen Krankheitsprozesse der MS von zwei Seiten angreifen. Es bleibt aber offen, ob diese Substanz bei Multipler Sklerose selbst tatsächlich wirksam ist. Um die Dosis an EGCG, die im Tiermodell eingesetzt wurde, durch reinen Teegenuss in etwa zu erreichen, wäre ein täglicher Konsum von ca. drei bis vier Litern notwendig. Ein solcher Konsum ist hierzulande unüblich, in anderen Regionen (Südostasien) aber durchaus gewöhnlich. Auffällig ist, dass gerade in diesen Regionen die Prävalenz der MS vergleichsweise niedrig ist. Angesichts dieser Hinweise sind nun Studien geplant, die untersuchen sollen, ob eine gezielte pharmakologische Behandlung mit EGCG bei Patienten mit schubförmiger Multipler Sklerose sicher ist und einen therapeutischen Effekt hat.

Literatur

- (1) Ferguson, B., Matyszak, M. K., Esiri, M. M., Perry, V. H., Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain* 1997, 120, 393–399
- (2) Trapp, B. D., Peterson, J., Ransohoff, R. M., Rudick, R. A., Mork, S. et al., Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 1998, 338, 278–285
- (3) Zipp, F., Aktas, O., The brain as a target of inflammatory processes: common pathways link inflammatory and neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci.* (in press) 2006
- (4) Peterson, J. W., Bo, L., Mork, S., Chang, A., Trapp, B. D., Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann. Neurol.* 2001, 50, 389–400

- (5) Meyer, R., Weissert, R., Diem, R., Storck, M. K., de Graaf, K. L. et al., Acute Neuronal Apoptosis in a Rat Model of Multiple Sclerosis. *J. Neurosci.* 2001, 21, 6214-6220
- (6) Aktas, O., Smorodchenko, A., Brocke, S., Infante-Duarte, C., Topphoff, U. S. et al., Neuronal Damage in Autoimmune Neuroinflammation Mediated by the Death Ligand TRAIL. *Neuron* 2005, 46, 421-432
- (7) Inglese, M., Ge, Y., Filippi, M., Falini, A., Grossman, R. I. et al., Indirect evidence for early widespread gray matter involvement in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neuroimage* 2004, 21, 1825-1829
- (8) Schulz, D., Kopp, B., Kunkel, A., Faiss, J. H., Cognition in the early stage of multiple sclerosis. *J. Neurol.* (online) 2006
- (9) Iragui-Madoz, V. J., Electrophysiology of multiple sclerosis. 1990, 2nd, 708-738

- (10) Eriksson, M., Ben Menachem, E., Andersen, O., Epileptic seizures, cranial neuralgias and paroxysmal symptoms in remitting and progressive multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 2002, 8, 495-499
- (11) Coles, A. J., Wing, M. G., Molyneux, P., Paolillo, A., Davie, C. M. et al., Monoclonal antibody treatment exposes three mechanisms underlying the clinical course of multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 1999, 46, 296-304
- (12) Bjartmar, C., Kidd, G., Mork, S., Rudick, R., Trapp, B. D., Neurological disability correlates with spinal cord axonal loss and reduced N-acetyl aspartate in chronic multiple sclerosis patients. *Ann. Neurol.* 2000, 48, 893-901
- (13) Brex, P. A., Ciccarelli, O., O'Riordan, J. I., Sailer, M., Thompson, A. J. et al., A longitudinal study of abnormalities on MRI and disability from multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2002, 346, 158-164
- (14) Yang, F., de Villiers, W. J., McClain, C. J., Varilek, G. W., Green tea polyphenols block endotoxin-induced tumor necrosis factor-production and lethality in a murine model. *J. Nutr.* 1998, 128, 2334-2340
- (15) Dona, M., Dell'Aica, I., Calabrese, F., Benelli, R., Morini, M. et al., Neutrophil restraint by green tea: inhibition of inflammation, associated angiogenesis, and pulmonary fibrosis. *J. Immunol.* 2003, 170, 4335-4341
- (16) Haqqi, T. M., Anthony, D. D., Gupta, S., Ahmad, N., Lee, M. S. et al., Prevention of collagen-induced arthritis in mice by a polyphenolic fraction from green tea. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999, 96, 4524-4529
- (17) Levites, Y., Weinreb, O., Maor, G., Youdim, M. B., Mandel, S., Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate prevents N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced dopaminergic neurodegeneration. *J. Neurochem.* 2001, 78, 1073-1082
- (18) Lee, S., Suh, S., Kim, S., Protective effects of the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate against hippocampal neuronal damage after transient global ischemia in gerbils. *Neurosci. Lett.* 2000, 287, 191-194
- (19) Aktas, O., Prozorovski, T., Smorodchenko, A., Savaskan, N. E., Lauster, R. et al., Green tea epigallocatechin-3-gallate mediates T cellular NF-kB inhibition and exerts neuroprotection in autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.* 2004, 173, 5794-5800