

Felix Michalke

Dr. med.

## **Einfluss von Immunsuppressiva auf die Entstehung und Reifung der Immunologischen Synapse**

Promotionsfach: Immunologie

Doktormutter: Prof. Dr. med. Yvonne Samstag

Immunsuppressiva finden eine breite Anwendung in der Therapie von Autoimmunerkrankungen sowie zur Vermeidung von Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantation und werden meist im Rahmen einer Kombinationstherapie eingesetzt. Sieht man von der Akutphase nach einer Transplantation ab, besteht das Hauptziel in der langfristigen Hemmung der Immunreaktion, wie sie durch das adaptive Immunsystem hervorgerufen wird. Die zentrale Schaltstelle, die die adaptive Immunantwort reguliert, liegt in den sekundären lymphatischen Organen – hier findet die T-Zellaktivierung an der Immunologischen Synapse statt. Erst durch die Immunologische Synapse wird ein ausreichend stabiler und lang andauernder Kontakt zwischen APZ- und T-Zellen ermöglicht. Daher kann eine Modulation auf dieser Ebene große Auswirkungen auf den Verlauf der gesamten zellvermittelten Immunantwort haben. Eine spezifische Hemmung der Immunologischen Synapse könnte somit eine effektive und möglicherweise nebenwirkungsreduzierte therapeutische Immunsuppression ermöglichen.

Inwieweit heutzutage klinisch eingesetzte Immunsuppressiva die Immunologische Synapse untransformierter humaner T-Lymphozyten beeinflussen war bislang unbekannt. In der vorliegenden Arbeit wurde nun erstmals die Wirkung gängiger Vertreter der immunsuppressiven Therapie auf die Reifung der Immunologischen Synapse mit primären humanen T-Zellen gesunder Spender und APZs untersucht. Dazu wurde ein experimentelles System unter Verwendung der ImageStream-Technologie etabliert, welches die Vorteile der Immunfluoreszenzmikroskopie (genaue Lokalisation des Fluoreszenzsignals innerhalb der Zelle) mit den überlegenen Durchsatzraten der Durchflusszytometrie vereint. So konnten je untersuchter Probe durchschnittlich 20.000 T-Zellen und über 2.000 Zellkontakte untersucht

werden. Zur Auswertung der entstandenen Bilddaten wurde ein Algorithmus entwickelt, der Immunologische Synapsen durch Analyse der Fluoreszenzintensität, Zellsymmetrie und Mustererkennung identifizieren kann. Dieser Algorithmus wurde unverändert auf alle Proben angewendet, so dass eine untersucherunabhängige statistische Aussage möglich wurde.

Es konnte gezeigt werden, dass Dexamethason, Mykophenolsäure (MPA) und Rapamycin einen deutlichen Einfluss auf die Reifung der Immunologischen Synapse haben (Reduktion der Zahl reifer IS um mindestens 30% im Vergleich zur Kontrolle). Andere strukturell (CsA/FK506 vs. Rapamycin) oder vom Wirkansatz (Leflunomid vs. MPA) ähnliche Medikamente zeigten interessanterweise keinen solchen Effekt. Dabei hatten die hier verwendeten Pharmaka in allen Konzentrationen einen messbaren Einfluss auf die T-Zellproliferation und/oder T-Zellaktivität ohne zytotoxisch zu wirken.

Dass dieser bisher unbekannte Wirkmechanismus von Dexamethason, MPA und Rapamycin auch klinische Relevanz besitzen könnte, wird durch den Vergleich mit Serumspiegelkontrollen bei Studienpatienten deutlich. Die in vivo gemessenen Serumspiegel der Pharmaka sind je nach Behandlungsindikation sogar höher als die hier in vitro eingesetzten und experimentell üblichen Konzentrationen.

Durch die gezielte Inhibition der Immunologischen Synapse könnte eine nebenwirkungsärmere immunmodulatorische Therapie entwickelt werden. Zum Einen könnte im Rahmen einer Kombinationstherapie aus Dexamethason, Mykophenolsäure und Rapamycin möglicherweise die Toxizität jedes Wirkstoffs durch geringere Einzeldosen reduziert werden. Desweiteren wäre es wünschenswert, durch eine zeitlich begrenzte Inhibition der Immunologischen Synapse, beispielsweise während einer Organtransplantation, die Ausprägung der zellulären Immunantwort gegenüber dem spezifischen Antigen zu minimieren ohne langfristig das Immunsystem des Organismus zu schwächen. Interessanterweise wird diese Überlegung gestützt durch Beobachtungen der aktuellen klinischen Forschung. So zeigte sich in einer Studie an Nierentransplantatpatienten die Kombinationstherapie mit Mykophenolsäure, Rapamycin und Kortikosteroiden gegenüber konventionellen Therapieschemata mit Calcineurininhibitoren hinsichtlich der Abstoßungsrate und Transplantatüberlebensdauer signifikant überlegen, wobei die

Dosierungen von MPA und Kortikosteroiden im Verlauf reduziert werden konnten – ob und inwiefern diese Beobachtungen auf die Modulation der Immunologischen Synapse zurückzuführen sind, müssen zukünftige Untersuchungen an T-Zellen von entsprechend therapierten Spendern noch zeigen. Dieser Vergleich mit Ergebnissen der aktuellen klinischen Forschung verdeutlicht gleichzeitig, wie wichtig ein noch genaueres Verständnis der Signalwege im Rahmen der T-Zellaktivierung für die Therapie von Autoimmunerkrankungen oder für die Transplantationsmedizin ist.