

Anne Dorothea Hertenstein

Dr. med.

Funktionelle und molekulare Untersuchungen zu den Effekten des synthetischen immunmodulierenden Tryptophan-Metaboliten Tranilast auf humane T-Zellen

Promotionsfach: Neurologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Michael Platten

Autoimmunerkrankungen, wie z.B. die Multiple Sklerose (MS) oder Rheumatoide Arthritis (RA), sind weltweit verbreitete Erkrankungen, für die es bislang keinen kausalen Therapieansatz gibt. Die derzeitigen symptomatischen Therapiebemühungen richten sich daher auf Entzündungshemmung und Immunsuppression. Die Autoimmunreaktion der MS bzw. RA wird maßgeblich durch autoaggressive T_H1 Zellen im Zusammenspiel mit pathologischen T_H17 Zellen vermittelt. Demzufolge sind Therapieansätze, die diese autoreaktiven T-Zellen unterdrücken vielversprechende Ziele für die Behandlung der T_H1 -vermittelten Autoimmunerkrankungen.

Das oral verfügbare Therapeutikum Tranilast (3,4-dimethoxycinnamonyl-Anthranilsäure), ein synthetisches Derivat des Tryptophanmetaboliten Anthranilsäure, zeigt weitreichende immunsuppressive Effekte in dem Mausmodell der MS, der Experimentellen Autoimmunencephalomyelitis (EAE), sowie in der RA, in denen es effektiv die autoreaktive T_H1 Antwort hemmt und dadurch den Krankheitsverlauf deutlich mildert. Für die RA wird Tranilast bereits in Phase II Studien getestet.

Im Gegensatz zum murinen System sind Wirkmechanismen der Tranilasteffekte im humanen bislang wenig untersucht und Biomarker zur Überwachung der Tranilasttherapie unbekannt. Daher wurde in dieser Doktorarbeit die Wirkung von Tranilast auf die humanen T-Zellen analysiert, sowie nach Wirkmechanismen und Biomarkern gesucht. Tranilast hemmt die Proliferation von primären naiven und über den T-Zellrezeptor stimulierten $CD4^+$ T-Zellen mit einer mittleren Hemmkonzentration von unter $10\mu M$. Diese liegt unter dem im Patienten getesteten und gut verträglichen Plasmaspiegel von $30-100\mu M$ nach einer oralen Gabe von 200-600mg und ist deswegen biologisch hoch relevant. Die anti-proliferativen Tranilasteffekte sind in Effektor T-Zellen sowie in primären naiven $CD8^+$ T-Zellen ebenfalls zu beobachten, aber geringer ausgeprägt. Dies legt eine differentielle Wirkungsweise von Tranilast auf die verschiedenen T-Zellsubpopulationen nahe und kann mit funktionellen Ähnlichkeiten von Tranilast zu Tryptophanmetaboliten erklärt werden, die ebenfalls supprimierend auf die humane T-Zellproliferation wirken. Die Inhibition der $CD4^+$ und $CD8^+$ T-Zellen ist darüber hinaus mit einer reduzierten T-Zellaktivierung, gemessen an den Aktivierungsmarkern CD69, CD45RO und CD25, verbunden.

Um den Mechanismus der Tranilast-vermittelten T-Zellinhibition zu untersuchen, wurden Sekretions- und Expressionsanalysen relevanter Zytokine und Chemokine von stimulierten naiven $CD4^+$ T-Zellen unter Tranilastbehandlung durchgeführt. Diese zeigten, dass Tranilast in primären naiven $CD4^+$ T-Zellen mit der Produktion von STAT1 (Signal Transducer and Activator of Transcription 1) induzierten Zytokinen und Chemokinen interferiert. Vor allem unterdrückt Tranilast in stimulierten $CD4^+$ T-Zellen die Sezernierung und Genexpression der

Chemokine CXCL9 und CXCL10, die durch phosphoryliertes STAT1 induziert werden. Tranilast inhibiert sowohl die STAT1-Phosphorylierung wie auch –Genexpression und damit die Chemokin-Sezernierung. Die exogene Zugabe der proliferationsfördernden Chemokine CXCL9 und CXCL10 hebt die anti-proliferativen Effekte von Tranilast nahezu komplett auf und schwächt die Tranilast-vermittelte Inhibition der T-Zell Aktivierung deutlich ab. Die Inhibition der STAT1-Genexpression durch Tranilast wird in einem Feedbackmechanismus ebenfalls durch exogenes CXCL9 reduziert. Darüber hinaus zeigt die Blockierung des gemeinsamen Rezeptors von CXCL9 und CXCL10, namentlich CXCR3, vergleichbare Effekte auf die Proliferation und Aktivierung der stimulierten naiven CD4⁺ T-Zellen wie die Tranilastbehandlung in einer Konzentration von 10µM.

Diese Ergebnisse legen den STAT1-CXCL9/CXCL10-CXCR3 Pfadweg für die Vermittlung der Tranilastwirkung nahe. Tranilast hemmt die TCR-Stimulations-vermittelte Genexpression und Phosphorylierung von STAT1, was in einer geringeren Genexpression und Sezernierung der proliferationsfördernden und aktivierenden, STAT1-induzierten Chemokine CXCL9 und CXCL10 resultiert. Dadurch sind die anti-proliferativen Effekte sowie die Inhibition der Aktivierung der T-Zellen durch Tranilast erklärbar.

Die Tatsache, dass CXCR3 und STAT1 T_H1-spezifische T-Zellmarker darstellen, erklärt die differentielle Wirkung von Tranilast auf CD4⁺ T-Zellen. Somit bekräftigt der hier vorgestellte Wirkmechanismus über STAT1-CXCL9/CXCL10-CXCR3 den möglichen Einsatz von Tranilast in T_H1-vermittelten Autoimmunerkrankungen, wie der MS und RA.

Desweiteren können phosphoryliertes STAT1 sowie die beiden Chemokine CXCL9 und CXCL10 als Indikatoren für die Krankheitsaktivität der MS bzw. RA sowie als Biomarker für die Tranilastbehandlung dienen, um den Therapieerfolg zu überwachen.