

Martina Engst

Dr. med.

Quantitativer Nachweis und funktionale Untersuchung regulatorischer T-Zellen im fetalen Kreislauf bei Kindern von Patientinnen mit normalem Schwangerschaftsverlauf und gestationsspezifischen Erkrankungen

Promotionsfach: Frauenheilkunde

Doktormutter: PD Dr. rer. nat. Andrea Steinborn-Kröhl

Eine Schwangerschaft stellt sowohl das kindliche als auch das mütterliche Immunsystem vor eine schwierige Aufgabe. In den vergangenen Jahren lag das Augenmerk der Forschung hauptsächlich auf der Rolle des mütterlichen Immunsystems. Bisher weitgehend ungeklärt ist hingegen der Einfluss fetaler Tregs auf den Verlauf einer normalen Schwangerschaft und deren Bedeutung bei der Entstehung gestationsspezifischer Erkrankungen. Daher beschäftigte sich unsere Arbeitsgruppe im Rahmen der vorliegenden Arbeit mit der quantitativen und funktionalen Analyse fetaler Tregs.

Hierzu wurden durchflusszytometrische Untersuchungen und Proliferationstests an Tregs aus dem Nabelschnurblut von frühgeborenen Kindern und Neonaten, die am Termin geboren wurden durchgeführt. Eine weitere Unterteilung der Patientenkollektive erfolgte anhand des Geburtsgewichts in AGA (normales Geburtsgewicht) Neonaten und Kinder mit zu geringem Geburtsgewicht (SGA Neonaten).

Die durchflusszytometrische Untersuchung ergab, dass sich der fetale CD4⁺CD25⁺ T-Zellpool aus regulatorischen T-Zellen (CD4⁺CD25⁺CD127^{low+/-}-Tregs) und Effektor T-Zellen (CD4⁺CD25⁺CD127⁺-Tresp) zusammensetzt. Der prozentuale Anteil der Treg- und Tresp-Zellen an der Gesamtzahl der CD4⁺CD25⁺ T-Zellen war in den verschiedenen Patientenkollektiven weitgehend konstant.

Es stellte sich daher die Frage, ob das Auftreten vorzeitiger Wehentätigkeit, bzw. zeitgerechter Wehentätigkeit am Termin, oder auch das Auftreten einer IUGR Einfluss auf die Zusammensetzung des CD4⁺CD25⁺CD127^{low+/-} Treg Zellpools haben könnte. Durch Anfärben der CD4⁺CD25⁺ T-Zellen mit anti-CD4, -CD25, -CD127, -FoxP3 und -CD95 spezifischen Antikörpern gelang deren Aufteilung in CD4⁺CD25⁺CD95⁺FoxP3⁻ T-Effektor Zellen und zwei unterschiedliche Treg Subpopulationen. Es zeigten sich zum einen CD4⁺CD25⁺CD95^{high+}FoxP3^{high+} Tregs und zum anderen CD4⁺CD25⁺CD95^{low+}FoxP3^{low+} Tregs. Auffällig war, dass sich die verschiedenen Treg Subpopulationen nicht nur in der Stärke der CD95 Expression unterschieden, sondern dass die beiden Untergruppen auch anhand ihrer FoxP3 Expression voneinander zu unterscheiden waren. Die statistische Auswertung des prozentualen Anteils der FoxP3^{high+} Tregs und der FoxP3^{low+} Tregs an der Gesamtzahl der CD4⁺CD25⁺CD127^{low+/-} Tregs ergab für die verschiedenen Patientenkollektive keine merklichen Unterschiede. Erkennbar war jedoch, dass die Tregs der einzelnen Patientenkollektive sich in der Stärke ihrer FoxP3 Expression deutlich unterschieden.

Tregs frühgeborener Kinder wiesen eine signifikant höhere FoxP3 MFI auf als die von Neonaten, die per elektiver Sectio caesarea am Termin geboren wurden. Ein drastischer Abfall der MFI an FoxP3 gegenüber den per Sectio caesarea geborenen Neonaten ergab sich für fetale Tregs von Kindern, die am Termin durch spontane Wehentätigkeit vaginal geboren wurden. Bezogen auf das jeweilige Gestationsalter errechnete sich in der statistischen Auswertung ein linearer Abfall der MFI von FoxP3 der CD4⁺CD25⁺CD127^{low+/-} Tregs im Verlauf der Schwangerschaft mit einem Minimum der FoxP3 MFI bei Tregs von spontan am Termin geborenen Kindern. CD4⁺CD25⁺CD127^{low+/-} Tregs von Kindern mit einer IUGR wiesen sowohl bei Geburt am Termin als auch bei vorzeitiger Entbindung eine signifikant niedrigere FoxP3 MFI auf als AGA Neonaten mit gleichem Gestationsalter. Auch für SGA Neonaten errechnete sich in der Auswertung ein linearer Abfall der FoxP3 MFI im Verlauf der Schwangerschaft. Der Vergleich der Regressionsgeraden von AGA Kindern und SGA Neonaten ergab einen signifikanten Unterschied. Dieser Abfall der MFI von FoxP3 war nicht nur für die Gesamtheit der fetalen CD4⁺CD25⁺CD127^{low+/-} Treg Zellen nachweisbar. Interessanterweise verhalten sich beide Treg Subpopulationen (CD4⁺CD25⁺CD127^{low+/-} FoxP3^{high+} Tregs und CD4⁺CD25⁺CD127^{low+/-} FoxP3^{low+} Tregs) im Verlauf der Schwangerschaft gleichsinnig. Auch der markante Einbruch der Expression von FoxP3 bei spontan am Termin geborenen Kindern mit zeitgerechtem Geburtsgewicht ließ sich für beide Subpopulationen nachweisen. Fetale Tregs im Nabelschnurblut von SGA Neonaten wiesen in

beiden Subpopulationen eine deutlich geringere FoxP3 MFI auf als Tregs von Kindern mit zeitgerechtem Geburtsgewicht und gleichem Gestationsalter.

Den durchflusszytometrischen Untersuchungen schlossen sich funktionale Analysen an. Die stärkste suppressive Aktivität fand sich bei den CD4⁺CD25^{high+} Tregs von AGA Frühgeborenen. Fetale Tregs von AGA Neonaten, die per elektiver Sectio caesare geboren wurden wiesen ebenfalls eine starke suppressive Aktivität auf. Hingegen zeigten sowohl AGA Neugeborene, die am Termin spontan geboren wurden als auch SGA Neonaten kaum eine suppressive Aktivität. Somit scheinen sowohl der Geburtsmodus als auch das Vorhandensein einer IUGR Einfluss auf die Funktion fetaler Tregs zu haben. Bei eben diesen Patientenkollektiven war bereits in der quantitativen Analyse eine deutlich geringere FoxP3 Expression aufgefallen als bei den jeweiligen Kontrollgruppen (AGA Neonaten, Entbindung per elektiver Sectio caesarea). Vor dem Hintergrund der durchflusszytometrischen Analysen lässt sich daher vermuten, dass eine hohe FoxP3 MFI eine hohe suppressive Aktivität bedingt, während eine geringe Expression an FoxP3 mit dem fast vollständigen Verlust der suppressiven Aktivität einhergeht.