

Charlotte Mai

Dr. med.

## **Nachweis von ICOS<sup>+</sup> und ICOS<sup>-</sup> regulatorischen T-Zellen (Tregs) als „recent thymic emigrants“ (RTEs) im peripheren Blut von Patientinnen mit nicht hemmbarer vorzeitiger Wehentätigkeit**

Fach/Einrichtung: Frauenheilkunde

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

Regulatorische T-Zellen (Tregs) ermöglichen einen komplikationslosen Schwangerschaftsverlauf, indem sie die Toleranz des Immunsystems gegenüber dem semiallogenen Fetus aufrechterhalten. Veränderungen in der Zusammensetzung des Gesamtpools regulatorischer T-Zellen lassen sich bei zahlreichen gestationsspezifischen Erkrankungen nachweisen. Regulatorische T-Zellen lassen sich dabei ebenso wie konventionelle T-Zellen anhand verschiedener Oberflächenantigene unterscheiden. Im Thymus finden sich bereits zwei unterschiedliche Subpopulationen von Tregs, die sich anhand der Expression von ICOS charakterisieren lassen und große Unterschiede in ihrer Proliferationskapazität sowie ihrer Sensitivität gegenüber Apoptosesignalen aufweisen. Sowohl ICOS<sup>+</sup> als auch ICOS<sup>-</sup> Tregs werden als RTE-Tregs aus dem Thymus ausgeschüttet und können dann über CD31<sup>+</sup> Memory-Tregs weiter differenzieren zu CD31<sup>-</sup> Memory-Tregs. Sie können sich aber auch zu MN-Tregs entwickeln, die eine langlebige Subpopulation naiver Tregs darstellen und im weiteren Verlauf ebenfalls zu CD31<sup>-</sup> Memory-Tregs differenzieren können.

Ziel dieser Doktorarbeit war es darzustellen, wie sich die Ausschüttung der RTE-Tregs aus dem Thymus sowie deren weitere Differenzierung mit dem Beginn der Schwangerschaft, bei Einsetzen des Spontanpartus sowie bei vorzeitiger intrauteriner Aktivierung sowohl innerhalb des ICOS<sup>+</sup> als auch des ICOS<sup>-</sup> Treg-Pools entwickelt. Zudem sollte untersucht werden, ob sich der Anteil der ICOS<sup>+</sup> sowie der ICOS<sup>-</sup> Tregs am Gesamt-Tregpool in der Schwangerschaft, während des Spontanpartus sowie bei vorzeitiger intrauteriner Aktivierung verändert. Hierfür wurde das Blut einer gesunden und nicht schwangeren Kontrollgruppe sowie von Schwangeren im ersten Trimenon, im dritten Trimenon, Frauen während des Spontanpartus, während eines vorzeitigen Blasensprungs und bei vorzeitiger, nicht hemmbarer Wehentätigkeit mit und ohne vorzeitigen Blasensprung untersucht. Nach entsprechender Isolierung und Aufreinigung wurden aus allen Blutproben die mononukleären Zellen durchflusszytometrisch auf ihre Expression der Oberflächenantigene CD4, CD127, ICOS, CD45RA, CD31 sowie des im Zellkern liegenden Antigens Foxp3 untersucht.

Mit dem Beginn der Schwangerschaft wurde sowohl im ICOS<sup>+</sup> als auch im ICOS<sup>-</sup> Treg-Pool eine deutliche Reduktion der RTE-Tregs sowie der CD31<sup>+</sup> Memory-Tregs nachgewiesen. Der Anteil der CD31<sup>-</sup> Memory-Tregs nahm hingegen sowohl im ICOS<sup>+</sup> als auch im ICOS<sup>-</sup> Treg-Pool zu. Diese Veränderungen waren im gesamten Schwangerschaftsverlauf nachweisbar. Während des Spontanpartus zeigte sich jedoch sowohl im ICOS<sup>+</sup> als auch im ICOS<sup>-</sup> Treg-Pool

ein Absinken der CD31<sup>-</sup> Memory-Tregs bei zugleich steigenden RTE-Tregs und CD31<sup>+</sup> Memory-Tregs. Zudem fand sich während des Spontanpartus ein signifikant niedrigerer Anteil der ICOS<sup>+</sup> Tregs am Gesamt-Treg-Pool. Die hormonell bedingte Rückbildung des Thymusgewebes zu Beginn der Schwangerschaft scheint also auch zu einer reduzierten Ausschüttung sowohl ICOS<sup>+</sup> als auch ICOS<sup>-</sup> RTE-Tregs zu führen. Diese differenzieren in der Folge verstärkt über CD31<sup>+</sup> Memory-Tregs zu CD31<sup>-</sup> Memory-Tregs. Mit dem Einsetzen spontaner, termingerechter Wehen scheint die Proliferationsfähigkeit der RTE-Tregs jedoch ausgeschöpft zu sein. Da sie nicht mehr über CD31<sup>+</sup> Memory-Tregs zu CD31<sup>-</sup> Memory-Tregs differenzieren, sinkt der Anteil der CD31<sup>-</sup> Memory-Tregs sowohl im ICOS<sup>+</sup> als auch im ICOS<sup>-</sup> Treg-Pool signifikant ab und der Anteil der RTE-Tregs sowie der CD31<sup>+</sup> Memory-Tregs steigt an. Bei gleichzeitig sinkendem Anteil der ICOS<sup>+</sup> Tregs am Gesamt-Tregpool scheint die suppressive Aktivität des Gesamt-Tregpools nicht mehr aufrechterhalten werden zu können und es kommt zur physiologischen Abstoßung des Feten.

Auch bei Patientinnen mit vorzeitiger intrauteriner Aktivierung ließ sich dieser verminderte Anteil der ICOS<sup>+</sup> Tregs im Gesamt-Tregpool nachweisen. Bei Patientinnen mit vorzeitigem Blasensprung aber noch ohne vorzeitige Wehentätigkeit zeigte sich zusätzlich sowohl im ICOS<sup>+</sup> als auch im ICOS<sup>-</sup> Treg-Pool eine Zunahme der CD31<sup>+</sup> Memory-Tregs, im ICOS<sup>+</sup> Treg-Pool auch eine Abnahme der CD31<sup>-</sup> Memory-Tregs. Bei Patientinnen mit vorzeitiger Wehentätigkeit zeigte sich zudem im ICOS<sup>-</sup> Treg-Pool eine Reduktion der MN-Tregs. Diese fand sich bei Patientinnen mit vorzeitiger Wehentätigkeit nach vorzeitigem Blasensprung auch im ICOS<sup>+</sup> Treg-Pool. Bei Patientinnen mit vorzeitiger intrauteriner Aktivierung scheint also die Proliferationskapazität der RTE-Tregs zu früh erschöpft und die weitere Differenzierung der CD31<sup>+</sup> Memory-Tregs zu CD31<sup>-</sup> Memory-Tregs gestört zu sein. Vorzeitige Wehentätigkeit wird dann ausgelöst, wenn es zu einer alternativen Differenzierung der MN-Tregs zu CD31<sup>-</sup> Memory-Tregs innerhalb des ICOS<sup>-</sup> Treg-Pools kommt. Diese durch die Differenzierung von MN-Tregs entstehenden CD31<sup>-</sup> Memory-Tregs scheinen die immunregulatorische Funktion des Gesamt-Tregpools jedoch nicht aufrechterhalten zu können und können die Frühgeburt nicht abwenden. Da auch der Anteil der ICOS<sup>+</sup> Tregs am Gesamt-Tregpool fällt, fehlen besonders gut immunsuppressiv wirkende ICOS<sup>+</sup> CD31<sup>-</sup> Memory-Tregs, um die vorzeitige intrauterine Aktivierung zu verhindern. Sowohl beim termingerechten Spontanpartus als auch bei vorzeitiger intrauteriner Aktivierung ist also ein sinkender Anteil der ICOS<sup>+</sup> Tregs am Gesamt-Tregpool nachweisbar. Die zugrundeliegenden Veränderungen in der Zusammensetzung des ICOS<sup>+</sup> und des ICOS<sup>-</sup> Treg-Pools unterscheiden sich aber beim physiologischen Geburtsverlauf deutlich von denen bei einem vorzeitigem Blasensprung oder vorzeitiger, tokolyseresistenter Wehentätigkeit.