



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Medizinische Fakultät Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Untersuchung der T-Lymphozyten Transmigration in einem  
humanen *in vitro* Modell der Blut-Liquor-Schranke**

Autor: Claudia Ellen Weber  
Institut / Klinik: Klinik für Kinder- und Jugendmedizin  
Doktorvater: Prof. Dr. T. Tenenbaum

Die Blut-Liquor-Schranke spielt als potentielle Eintrittspforte für Immunzellen und durch ihre Teilnahme an immunologischen Prozessen bei der Pathophysiologie von entzündlichen und infektiösen ZNS-Erkrankungen eine bedeutsame Rolle. Als Modellerkrankungen dienten die Multiple Sklerose als inflammatorische und die virale Meningitis als infektiöse Erkrankung. Um grundlegende immunologische Prozesse an der Blut-Liquor-Schranke genauer zu erforschen und eine bessere Übertragbarkeit auf den menschlichen Organismus zu ermöglichen, wurde ein humanes *in vitro* Modell der Blut-Hirn-Schranke mit human malignant choroid plexus papilloma Zellen (HIBCPP-Zellen) für die Experimente verwendet. Vier verschiedene Teilaspekte wurden an dem humanen *in vitro* Modell untersucht:

Der Einfluss von IFN- $\gamma$  und CXCL12 auf die T-Lymphozytenmigration durch HIBCPP-Zellen  
Die Migrationskapazität von T-Lymphozyten von Kindern an Multipler Sklerose erkrankter Mütter und intrauteriner Natalizumab-Exposition

Der Einfluss des nicht-Polio Enterovirus E-30 auf die T-Lymphozytenmigration über HIBCPP-Zellen sowie die dadurch ausgelöste Ausschüttung von Zytokinen

Die Tryptophan-Degradation als induzierbarer zellulärer antibakterieller Mechanismus von HIBCPP-Zellen

Die Migration von T-Lymphozyten in das zentrale Nervensystem ist ein bedeutender immunologischer Mechanismus der Neuroinflammation, wie sie im Rahmen der Multiplen Sklerose auftritt. Hierbei spielen Zytokine, wie IFN- $\gamma$  und CXCL12, eine wesentliche Rolle. IFN- $\gamma$  als inflammatorisches Zytokin fungiert als Aktivator und CXCL12 als Chemoattractant für T-Lymphozyten. Der Nachweis einer erhöhten Anzahl IFN- $\gamma$  produzierender T-Lymphozyten sowie einer erhöhten Konzentration von CXCL12 im Liquor von Patienten mit entzündlichen Erkrankungen des zentralen Nervensystems weisen auf die Relevanz dieser Botenstoffe bei neuroimmunologischen Prozessen hin. Die Blut-Liquor-Schranke gilt als mögliche Eintrittspforte für T-Lymphozyten in das zentrale Nervensystem.

Im Rahmen von Transmigrationsexperimenten wurde der Einfluss von IFN- $\gamma$  und CXCL12 auf die T-Lymphozytenmigration durch HIBCPP-Zellen untersucht. Das Chemokin CXCL12 konnte als wesentlicher Stimulus für die Migration von T-Lymphozyten durch HIBCPP identifiziert werden. IFN- $\gamma$  stimuliert hingegen die T-Lymphozytenmigration nur gering. Basierend auf diesem Ergebnis ist davon auszugehen, dass neben IFN- $\gamma$  weitere Zytokine eine Rolle bei Migration von T-Lymphozyten über die Blut-Liquor-Schranke im Rahmen der Neuroinflammation spielen.

Die Multiple Sklerose ist eine entzündliche Erkrankung des zentralen Nervensystems, die entweder Schüben oder progredient verlaufen kann. Im Rahmen der Erkrankung kommt es zu einer Neuroinflammation bei der Immunzellen in das zentrale Nervensystem einwandern und Entzündungsherde bilden. Natalizumab ist ein rekombinanter, monoklonaler Antikörper, der den Übertritt von Immunzellen aus dem Blut in das zentrale Nervensystem verhindert. Als etablierte immunmodulatorische Therapie wird Natalizumab zur Schubprophylaxe der hochaktiven, schubförmig-remittierend verlaufenden Multiplen Sklerose angewandt. Da Frauen im gebärfähigen Alter eine wesentliche Patientengruppe der Multiplen Sklerose darstellen, werden in bestimmten Fällen schwangere Frauen mit Natalizumab behandelt. Da es sich bei Natalizumab um einen plazentagängigen Antikörper handelt, kommt es in diesen Fällen zu einer intrauterinen Exposition der ungeborenen Kinder. Um den Effekt einer intrauterinen Natalizumab-Exposition auf das kindliche Immunsystem zu untersuchen, wurden T-Lymphozyten von Kindern nach entsprechender Exposition im Alter von zwei Wochen und zwei Monaten isoliert und ihre Migrationskapazität analysiert. Dazu wurden T-Lymphozyten von Kindern nach entsprechender Exposition im Alter von zwei Wochen und

zwei Monaten isoliert und ihre Migrationskapazität im Filtermodell *in vitro* analysiert. Hierzu wurden die Migrationsrate in An- und Abwesenheit von CXCL12 gemessen. Für die T-Lymphozyten der Natalizumab exponierten Kinder zeigte sich nach zwei Wochen in Anwesenheit von CXCL12 eine Verringerung der Migrationsrate verglichen zu gesunden Kontrollen. Die Tatsache, dass sich nach zwei Monaten die Migrationsrate der Kontrollgruppe wieder anglich, kann als Hinweis für einen vorübergehenden Effekt der Exposition auf das kindliche Immunsystem gewertet werden.

Die Einwanderung von Immunzellen sowie die Ausschüttung von Zytokinen sind auch wesentliche Prozesse bei der Pathogenese der viralen Meningitis. Um die Rolle der Blut-Liquor-Schranke bei dieser Infektionskrankheit zu untersuchen, wurde das humane *in vitro* Modell mit HIBCPP-Zellen genutzt. Hierzu wurden HIBCPP-Zellen mit dem Enterovirus-Stamm E-30 infiziert und anschließend die T-Lymphozytenmigration sowie die Zytokinfreisetzung gemessen. Die enterovirale Infektion erhöhte die Migrationsrate von T-Lymphozyten nach kurzer Stimulierungszeit zwar nicht, bewirkte jedoch die Ausschüttung der Zytokine CXCL1, CXCL2 und CXCL3, die die Lymphozytenmigration prinzipiell stimulieren können. Diese Ergebnisse implizierten, dass eine längere Stimulation von HIBCPP für eine effektive T-Lymphozyten Migration notwendig ist oder andere bzw. weitere Stimulationsfaktoren benötigt werden.

Im letzten experimentellen Ansatz wurde der antiinflammatorische Effekt von Zytokinen, die im Rahmen von Infektionen ausgeschüttet werden, auf Zellen der Blut-Liquor-Schranke untersucht. Hierzu wurde geprüft, ob HIBCPP-Zellen unter Einfluss von  $\text{IFN-}\gamma$  und  $\text{TNF-}\alpha$  in der Lage sind, Tryptophan zu degradieren. Die Degradation von Tryptophan ist ein gut beschriebener antimikrobieller Mechanismus. Durch den Nachweis des Abbauproduktes von Tryptophan wurde gezeigt, dass dieser antibakterielle Mechanismus an der Blut-Liquor-Schranke induziert werden kann.

Insgesamt verdeutlichen die im Rahmen der Arbeit durchgeführten Experimente an dem humanen *in vitro* Modell mit HIBCPP-Zellen die Relevanz der Blut-Liquor-Schranke bei immunologischen Prozessen im Rahmen von entzündlichen und infektiösen ZNS-Erkrankungen. Die vorgestellten Ergebnisse ergänzen vorhandenes Wissen über immunologische Prozesse an der Blut-Liquor-Schranke und lieferten Ansätze für darauf aufbauende Studien.