

Katrin Isabel Jacob

Dr. med.

Histonacetylierung in der intestinalen Lamina propria des menschlichen Darms und deren funktionelle Konsequenzen

Fach/Einrichtung: Immunologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Stefan Meuer

Makrophagen der menschlichen Darmschleimhaut rekrutieren sich nach heutigem Kenntnisstand aus dem Pool zirkulierender Blutmonozyten. Unter homöostatischen Bedingungen entwickeln sie nach der Einwanderung ins Gewebe einen besonderen Phänotyp: Sie exprimieren nur noch wenige bis keine Mustererkennungsrezeptoren (CD14, TLR4, TLR2), Komplementrezeptoren (CD11b, CD11c) und Fc-Rezeptoren (CD16, CD64, CD89); entsprechend sind sie funktionell kaum in der Lage, nach Stimulation mit bakteriellen Antigenen, proinflammatorische Moleküle zu sezernieren, die die Entstehung einer Immunantwort koordinieren würden.

Das Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob die kurzkettige Fettsäure n-Butyrat als milieuspezifisches mikrobielles Fermentationsprodukt im menschlichen Darm möglicherweise an der Induktion des spezifischen Phänotyps von humanen Makrophagen der intestinalen Lamina propria beteiligt ist.

Dafür wurde zunächst die Genexpression der Oberflächenrezeptoren *CD14*, *CD16*, *CD115*, *TLR4* und *CD11b* in Butyrat-behandelten Monozyten des peripheren Blutes analysiert. Hierbei zeigte sich eine dosisabhängig verminderte Genexpression von *CD14*, *CD16*, *CD115* und *TLR4*, jedoch eine gesteigerte Genexpression von *CD11b*. Darüber hinaus wurde eine verminderte Gen- und Proteinexpression des Transkriptionsfaktors PU.1 in humanen Blutmonozyten nach Behandlung mit n-Butyrat beobachtet. PU.1 wird selektiv in myeloiden Zellen, dendritischen Zellen und B-Zellen exprimiert und ist in murinen Zellen sowie in humanen B-Zelllinien bekanntermaßen in die Regulation der Genexpression aller der in dieser Arbeit untersuchten Rezeptorgene involviert. Die in der vorliegenden Arbeit gewonnenen Befunde deuten darauf hin, dass der bakterielle Metabolit n-Butyrat in humanen Monozyten nach deren Einwanderung ins intestinale Gewebe an der Herunterregulation sowohl von PU.1 selbst als auch der untersuchten, in humanen Gewebsmakrophagen zumindest in Teilen PU.1 regulierten, Oberflächenrezeptoren beteiligt ist.

Als mögliche Indikatoren einer n-Butyrat-Aktivität in intestinalen Immunzellen *in vivo* wurden im zweiten Teil dieser Arbeit der Acetylierungsgrad von Histon H4 sowie die Aktivität von Histondeacetylasen in Immunzellen der Lamina propria im Vergleich zu Immunzellen des peripheren Blutes untersucht. n-Butyrat besitzt bekanntermaßen eine inhibitorische Aktivität auf Histondeacetylasen. Diese Analysen ergaben eine im Mittel um 30% erhöhte Acetylierung von Histon H4 in isolierten mononukleären Zellen der Lamina propria verglichen mit den mononukleären Zellen des peripheren Blutes. Zelltyp-spezifische Untersuchungen zeigten keinen Unterschied in der Histon H4-Acetylierung zwischen isolierten T-Zellen aus der Lamina propria und dem peripheren Blut. Im Gegensatz dazu ließ sich eine im Mittel 8-fache Erhöhung der Histon H4-Acetylierung in isolierten Makrophagen der Lamina propria gegenüber Blutmonozyten beobachten. Mögliche isolations- oder methodenbedingte Auswirkungen auf diese Ergebnisse müssen noch in weiteren Experimenten analysiert werden. Ein direkter immunhistologischer Nachweis der Histonacetylierung in den Immunzellen der Lamina propria mucosae *in situ* gelang in dieser Arbeit nicht.

Die Aktivität von Histondeacetylasen in mononukleären Zellen der Lamina propria aus gesunder Kolonmukosa war, entsprechend der erhöhten Histon H4-Acetylierung in dieser Zellpopulation, vermindert im Vergleich zu den mononukleären Zellen des peripheren Blutes. Diese Beobachtungen weisen indirekt darauf hin, dass n-Butyrat vermutlich durch die Hemmung von Histondeacetylasen *in vivo* einen Einfluss auf Immunzellen der menschlichen Darmschleimhaut ausübt. Inwieweit auch eine Aktivitätssteigerung von Histonacetyltransferasen, den enzymatischen Gegenspielern von Histondeacetylasen, in diesem Kontext eine Rolle spielt, muss in weiteren Studien untersucht werden. Darüber hinaus bekräftigen diese Befunde indirekt aktuelle Erkenntnisse aus der Erforschung der Darmmikrobiota in Patienten mit chronischen beziehungsweise rezidivierenden Darmentzündungen, welche eine reduzierte Anzahl an Butyrat-produzierenden Spezies zeigen.

Die im Rahmen dieser Doktorarbeit gewonnenen Erkenntnisse über die funktionellen Konsequenzen von n-Butyrat liefern also weitere Hinweise dafür, dass die kommensale Flora unter homöostatischen Bedingungen ein Modulator der Reaktivität des intestinalen Immunsystems, insbesondere myeloider Zellen, ist. Individuelle oder auch nahrungsbedingte Schwankungen des Anteils an Butyrat-produzierenden Spezies regulieren möglicherweise die Reaktivität des Darmimmunsystems.