

Arne Zastrow
Dr. med.

Einfluss von Interleukin-10 auf endotheliale Aktivierung und endothelzell-abhängige T-Zell-Stimulation

Geboren am 09.10.1976 in Marburg

3. Staatsexamen am 05.05.2004 an der Ruprecht-Karls-Universität zu Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. T. J. Dengler

Endothelzellen spielen als Grenzbildner zwischen Blut und Gewebe eine entscheidende Rolle bei atherosklerose-assoziierten und inflammatorischen Ereignissen. Interleukin-10 gilt als pleiotropes Zytokin, das weitreichende immunmodulatorische Eigenschaften aufweist. Vor diesem Hintergrund befasst sich die vorliegende Arbeit mit dem Einfluss von IL-10 auf endotheliale Aktivierung und endothelzell-abhängige T-Zell-Proliferation.

Es wird auf molekularbiologischer Ebene und auf Proteinebene der Beweis geführt, dass beide Untereinheiten des IL-10-Rezeptors konstitutiv auf humanen Endothelzellen exprimiert werden. Diese Beobachtung erklärt sich nicht durch eine Präaktivierung der Zellen durch Kulturbedingungen, wie die gleichzeitig fehlende Expression von E-Selektin und VCAM beweist. Eine Heraufregulation der Rezeptordichte durch proinflammatorische Zytokine wie TNF- α und IL-1 findet sich nicht.

Die intrazelluläre Signaltransduktionskaskade humanen IL-10s verläuft STAT3-, aber nicht STAT-1-vermittelt. Sie führt zur Expressionsmodulation multipler immunologisch bedeutsamer Moleküle in HUVEC. So resultiert aus der IL-10-Stimulation eine moderate Mitigierung der Überexpression dieser endothelialen Oberflächenmoleküle, die im Rahmen von Entzündungsreaktionen vermehrt nachweisbar sind.

Die Transkriptionsrate der endothelialen NO-Synthetase wie auch die Konzentration des konsekutiv nachweisbaren cGMP ändert sich in HUVEC unter IL10-Einfluss nicht erkennbar. Dies spricht gegen eine Vermittlerrolle des u.a. antiinflammatorisch wirksamen NO. Auch eine signifikante Änderung der IL12-p40-Transkription zeigt sich nach IL10-Administration *nicht*. Im vorgestellten Endothelzell-Lymphozyten-Kokulturmodell wird IL-12 nicht in biologisch wirksamen Konzentrationen sezerniert, so dass eine Vermittlerrolle des Zytokins - ähnlich dem NO- unwahrscheinlich bleibt.

Als Effektorgene sind besonders ILT-3 und ILT-4 sowie SOCS-3 hervorzuheben, das die Synthese multipler Zytokine beeinflusst. SOCS-3 wird nach IL10-Zusatz rapide dosisabhängig transkribiert, im Falle von ILT-3 und ILT-4 findet sich eine de-novo-Induktion in HUVEC durch IL-10.

Funktionell wichtig erscheinen in ihrem Ergebnis antiinflammatorische Wirkungen, die IL-10 auf die Proliferation und Kostimulation von T-Zellen hat, wie hier gezeigt werden kann. Sie kommen unter Kokulturbedingungen zum Tragen, wie sie in vivo stets zu postulieren sind. Ein wesentlicher immunmodulatorischer Wirkmechanismus des IL-10 ist die Verhinderung einer ungebremsten T-Zell-vermittelten Immunantwort durch Proliferationshemmung kostimulierter T-Zellen sowie möglicherweise durch Selektion regulatorischer Lymphozyten. Experimente mit CD32-transfizierten HUVEC untermauern eine von Antigenprozessierung und -präsentation *unabhängige* Inhibition der kostimulatorischen bzw. proliferationsinduzierenden Potenz der Endothelien durch IL-10. Dabei erweist sich eine Präinkubation mit IL-10 einer Simultanstimulation in ihrer Effektstärke deutlich überlegen (Reduktion der T-Zell-Proliferation um ca. 50% bzw. ca. 20%). Es bleibt wahrscheinlich, dass dazu mehrere funktionell verknüpfte Einzelphänomene

beitragen, die antigen-präsentierende Zellen ebenso betreffen wie Lymphozyten. Ein Nebeneinander von verminderter Adhäsionsmolekül-Expression sowie von Inhibition der Expression und Wirksamkeit proinflammatorischer Zytokine einerseits, von Modulation kostimulatorischer Moleküle und Induktion tolerogener immunmodulatorischer Moleküle der ILT-Familie andererseits kann die Gesamtwirkung erklären. Aufgrund bisher nicht vorhandener Antikörper ist die mutmaßlich entscheidende Rolle, die ILT-3 und ILT-4 bei der Inhibierung der endothelzell-assoziierten T-Zell-Proliferation spielen, derzeit nicht beweisbar. Ihre funktionelle Bedeutung quantifizierend zu evaluieren, bleibt künftigen Untersuchungen vorbehalten.

Die hier referierten bzw. erstmals erhobenen Daten sprechen für multiple Wirkungen des IL-10 in seiner Interaktion mit HUVEC und bestätigen die Bedeutung und Nutzbarkeit von Endothelzellen als therapeutische Plattform, auf der IL-10 als lokal verfügbares Therapeutikum wertvolle Dienste leisten könnte. Die Zell-Zytokin-Interaktionen sind nicht als rein antiinflammatorisch zu charakterisieren, sondern vielmehr als ein System vielfach regulierter Aktionen und Reaktionen, das extreme Ausschläge der Immunantwort, Hypersensitivität wie Anergie, gleichermaßen ausbalanciert.

Die Wirksamkeit des Zytokins in vivo detailliert vorherzusagen, wird dadurch erschwert, dass der Aktivierungsgrad des gesamten Zellverbundes neben Dosierung und Timing der IL10-Applikation deren Gesamteffekt wesentlich bestimmt. Potente und nebenwirkungsarme Applikationsformen von IL-10 herauszustellen sowie klare Indikationsrichtlinien zu umreißen, muss klinischen Studien vorbehalten bleiben.

