

Linda Milkova  
Dr. med.

## **Phänotypische und funktionelle Charakterisierung und Expansion humaner regulatorischer T-Zellen aus Blut und Liquor**

Geboren am 27.01.1980 in Bratislava  
Staatsexamen am 31.05.2006 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Neurologie  
Doktormutter: Frau Prof. Dr. med. Brigitte Wildemann

Bei der Protektion des Organismus vor Autoimmunität ist neben zentralen Mechanismen wie der klonalen Deletion auch die Kontrolle autoreaktiver T-Zellen in peripheren Immunkompartimenten durch regulatorische T-Zellen vom CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>-Phänotyp von essentieller Bedeutung. Die Genese dieser natürlich vorkommenden CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> Treg erfolgt im Thymus, ihr Anteil an der peripheren T-Lymphozytenpopulation beträgt ca. 2%. Die Multiple Sklerose ist eine inflammatorische durch myelinspezifische autoreaktive T-Zellen vermittelte Autoimmunerkrankung des ZNS mit weitgehend ungeklärter Ätiologie, die in einer fortschreitenden Demyelinisierung der Markscheiden resultiert.

In dieser Studie wurden aus dem Blut von 31 MS-Patienten und 34 gesunden Kontrollen die CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> regulatorischen T-Zellen isoliert und phänotypisch sowie hinsichtlich ihres Vorkommens und ihrer suppressiven Kapazität durch FACS-Analysen und funktionelle *in vitro* Proliferationsassays untersucht. Bezüglich Quantität und Phänotyp der Treg konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen MS-Patienten und Kontrollen festgestellt werden; Treg von MS-Patienten zeigten jedoch eine im Vergleich zu Treg von Kontrollen signifikant verminderte suppressive Potenz.

Außerdem wurde in dieser Studie das Vorkommen der Treg im Liquor von 17 MS-Patienten und 30 Patienten mit anderen neurologischen Erkrankungen untersucht. Es konnte keine signifikante Erhöhung oder Abnahme der Treg im Liquor von MS-Patienten im akuten Schub im Vergleich zum peripheren Blut und Kontrollpatienten nachgewiesen werden, was gegen eine lokale Akkumulation von Treg im ZNS als Ursache für die verminderte Hemmkapazität der Treg bei MS-Patienten spricht.

Schließlich wurde durch *in vitro* Expansionsexperimente eine Proliferation der aus peripherem Blut isolierten natürlicherweise anergen Treg angestrebt. Auf diese Weise konnte eine bis zu 150fache Zunahme der Treg-Zahl beobachtet werden; die expandierten Treg verfügten über ein größeres suppressives Potential als frisch separierte Treg des gleichen

Spenders. Weiterhin gelang es beispielhaft, aus einer Liquorprobe Treg zu isolieren und ohne Verlust ihrer inhibitorischen Potenz *in vitro* zu expandieren.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die bei MS-Patienten verminderte Suppression der Responder T-Zellen durch regulatorische T-Zellen nicht durch einen quantitativen Mangel an Treg im Blut oder eine Migration in den Liquor bzw. durch phänotypische Unterschiede dieser Zellen begründet ist. Vielmehr ist von einem funktionellen Defekt der Treg von MS-Patienten auszugehen. Die selektive *in vitro* Expansion von regulatorischen T-Zellen mit einer konsekutiv gesteigerten suppressiven Potenz könnte einen wesentlichen Fortschritt für die Immuntherapie von Autoimmunerkrankungen wie der MS bedeuten.