

Philipp Arne Florian Forró geb. Schnatzer
Dr. med.

Regulatorische T-Zellen im Fokus der Osteoarthritis – durchflusszytometrische Analyse und systemisch-artikulärer Vergleich

Fach: Orthopädie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Felix Zeifang

Die Osteoarthritis (OA) ist eine häufige Erkrankung des Alters und geht oft mit einer starken Einschränkung der Lebensqualität einher. Deshalb zählt die OA in Deutschland zu den zwanzig häufigsten Gründen für einen vollstationären Krankenhausaufenthalt, was mit erheblichen Kosten im Gesundheitswesen verbunden ist.

Die Ätiologie der OA ist unklar. Im Rahmen der Pathogenese sind genetische, substantielle, mechanische und inflammatorische Faktoren beteiligt. T-Zellen scheinen bei OA bezüglich einer inflammatorischen Krankheitsprogression von großer Bedeutung zu sein. Deshalb ist die Frage nach den Gegenspielern proinflammatorischer Zellen – den sogenannten regulatorischen T-Zellen – unumgänglich.

Regulatorische T-Zellen, müssen ein fragiles Gleichgewicht zwischen Inflammation und peripherer Toleranz gewährleisten und spielen deshalb bei allen Erkrankungen mit immunologischer Komponente eine wichtige Rolle. Darunter fallen neben Infektionen und Malignomen insbesondere Autoimmunerkrankungen wie die RA und nach meiner Auffassung auch die OA. Die Rolle der T_{regs} wird bei RA bereits intensiv erforscht. Da RA und OA zahlreiche immunologische Gemeinsamkeiten aufweisen, können Forschungsergebnisse zur RA Hinweise auf eine immunologische Beteiligung regulatorischer T-Zellen bei OA geben.

Man muss sich bezüglich T_{regs} und OA die Frage stellen, ob ein proinflammatorisches Milieu durch einen T_{reg} Funktionsdefekt oder durch eine verminderte Anzahl regulatorischer T-Zellen bedingt sein könnte. Abgesehen von einer Rolle als mögliche Krankheitsverursacher oder Progressionstrigger stellen regulatorische T-Zellen bei medikamentöser Beeinflussung ihrer Funktion und Differenzierung ein potentiell und starkes therapeutisches Mittel dar. Deshalb besteht bezüglich T_{regs} bei OA großer Forschungsbedarf.

Dies ist die erste Studie zur OA, in der eine quantitative Analyse von T_{regs} mit einem Vergleich zwischen den drei Kompartimenten peripheres Blut (PB), Synovialgewebe (SG=Synovialschleimhaut) und Synovialflüssigkeit (SF) durchgeführt wird. Damit fließt auch erstmals das SG in eine derartige Analyse mit ein, welches möglicherweise ein inflammatorisches „Schlüsselkompartiment“ darstellt, da bei OA insbesondere hier Infiltrate proinflammatorischer Zellen nachweisbar sind.

Diese Studie soll die Populationsverhältnisse regulatorischer T-Zellen auch im Verhältnis zu anderen T-Zellen in den Einzelkompartimenten beschreiben. Ziel ist es aufgrund dieser quantitativen Analyse neue Anhaltspunkte zu erhalten, ob ein proinflammatorisches Milieu bei OA auf eine gestörte Funktion oder einen verminderten Anteil an T_{regs} zurückzuführen ist. Das Probenmaterial dieser Studie stammte von insgesamt 49 OA Patienten, die im Rahmen einer endoprothetischen Versorgung des Kniegelenkes stationär aufgenommen worden waren. Präoperativ wurde PB abgenommen, perioperativ SF und SG gewonnen. Nach erfolgter T-Zellisolation aus diesen Proben mittels magnetischer $CD3^+$ Positivselektion, wurden deren Oberflächenmarker CD4, CD25 und bei der Hälfte der Proben zusätzlich CD127 gefärbt. Somit war es möglich die Population der regulatorischen T-Zellen und daneben auch die Populationen der T-Effektorzellen und der naiven T-Zellen durchflusszytometrisch darzustellen. In diesem Rahmen wurde auch ein Vergleich zwischen Zweifach- und Dreifachfärbung angestellt (CD4, CD25 versus CD4, CD25 und CD127).

Gemäß den Ergebnissen dieser Studie ist der T_{reg} -Anteil in den artikulären Kompartimenten bei OA deutlich größer als im PB, was sich mit Studien zur RA deckt, da bei beiden Erkrankungen wahrscheinlich ähnliche immunologische Milieus herrschen. Gründe für erhöhte T_{reg} -Anteile können eine Rekrutierung oder Induktion bei gesteigerter entzündlicher Aktivität oder – im Rahmen eines möglichen Funktionsdefektes – ein Kompensationsversuch des Immunsystems sein. Bei RA konnten derlei Funktionsdefekte bereits nachgewiesen werden. Jedoch besteht auch die Möglichkeit, dass bei einer Krankheit wie der OA kein Funktionsdefekt vorliegt sondern die entscheidende T_{reg} -Subpopulation ($CD39^+$) fehlt, wenn man eine Inflammation durch TH17-Zellen annimmt.

Auch eine intraartikulär natürlich gesteigerte T-Zell-Differenzierung zu T_{regs} wäre eine mögliche Erklärung. Der T-Effektorzellanteil war hingegen in der SF immer am niedrigsten. Bei deutlich erhöhten Anteilen an T_{regs} und naiven T-Zellen scheint diesem Kompartiment keine wesentliche inflammatorische aber vielleicht entgegen aller Erwartungen eine bedeutende antiinflammatorische Rolle zuzukommen.

Im SG besteht tendenziell ein inflammatorisches Milieu, was anhand eines höheren T-Effektorzellanteils sowie eines niedrigeren T_{reg} -Anteils im Vergleich zur SF gefolgert werden kann. Zudem ist der Anteil an naiven T-Zellen im SG durchweg am geringsten.

OA-Patienten weisen im Vergleich zur Kontrollgruppe einen geringfügig höheren Anteil an T_{regs} , einen deutlich höheren T-Effektorzellanteil und einen deutlich niedrigeren Anteil naiver T-Zellen im PB auf. Diese Konstellation spricht für eine systemisch gesteigerte inflammatorische Aktivität. Bei einem deutlichen Altersunterschied zwischen Patientenkollektiv und Kontrollgruppe könnte man davon ausgehen, dass diese Zellkonstellation ein Altersphänomen ist, weil die Ergebnisse im Einklang mit Studien zur Immunoseneszenz stehen. Hierbei wäre die OA quasi als ein Symptom der Immunoseneszenz zu verstehen, die sich durch ein systemisch zunehmendes proinflammatorisches Milieu im Alter auszeichnet.

Die Auswertung der Zellkonzentrationen ergab die höchsten Zellzahlen für PB gefolgt von SG und SF. Da jedoch nicht die absolute Zellzahl sondern die zelluläre Interaktion entscheidend für einen entzündlichen Prozess ist, liefern hier die prozentualen Populationsanteile wahrscheinlich bessere Hinweise. Wie gemäß dem Wissensstand zum Thema Immunoseneszenz zu erwarten, waren die Gesamtzellzahlen des Patientenkollektives geringer als die der Kontrollgruppe.

Im Methodenvergleich konnten kaum Unterschiede bezüglich der T_{reg} -Anteile dargestellt werden, jedoch muss man davon ausgehen, dass die Erfassung der tatsächlichen T_{reg} -Population mit der Dreifachfärbung zuverlässiger ist.

Abschließend kann man bestätigen, dass bei OA artikulär ein proinflammatorisches Milieu herrscht. Artikulär (am ehesten kompensatorisch) gesteigerte T_{reg} -Anteile könnten auf einen Funktionsdefekt oder auf ein Fehlen der entscheidenden T_{reg} -Subpopulation hinweisen. Für eine Klärung dieser Fragen sind jedoch noch qualitative Analysen mit funktioneller Untersuchung dieser Zellen notwendig. Des Weiteren würden weitere quantitative Analysen mit Darstellung der inflammatorischen T-Zellsubpopulationen von Bedeutung sein.

Die in dieser Arbeit etablierte Technik zur Isolation von T-Lymphozyten aus dem Synovialgewebe ermöglicht eine weitere Analyse und somit eine Beurteilung der Rolle dieser Zellpopulation bei OA in Folgestudien. In Kombination mit der angewendeten Färbemethode ist auch eine Isolation von T_{regs} als viable Zellen möglich, welche dann für weitere funktionelle Analysen herangezogen werden können.