

Wjahat Ahmed Waraich
Dr.med.

In vitro Untersuchungen zum Einfluss von CD8⁺CD28⁻ regulatorischer T-Zellen bei Patienten mit Plasmazell Dyskrasien

Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Mathias Witzens-Harig, MHBA

Ziel dieser Arbeit war es den Einfluss von Lenalidomid – einer immunmodulatorischen Substanz – auf myelomspezifische CD8⁺ T-Zellen zu untersuchen, die in Anwesenheit von CD8⁺CD28⁻ T-Zellen in einer autologen Co-Kultur aus mononukleären Zellen des peripheren Blutes und dendritischen Zellen in vitro generiert und expandiert wurden. CD8⁺CD28⁻ T-Zellen (auch: CD8⁺ regulatorische T-Zellen bzw. CD8⁺ Treg) werden seit längerem als immunsuppressiv und regulatorisch charakterisiert. CD8⁺ Treg wurden in Zelleinsätze gegeben, womit ein direkter Zell-zu-Zell-Kontakt mit der Co-Kultur verhindert wurde. Es konnte gezeigt werden, dass die Immunmodulation durch lösliche Faktoren vermittelt wird, wobei das Zytokin Interleukin 6 als ein möglicher Mediator der CD8⁺ Treg näher untersucht wurde. Die in den Versuchen eingesetzten Zellen stammen aus peripherem Blut von 31 Gesunden und 8 Patienten mit frühen Stadien einer Plasmazell Dyskrasie (MGUS und MM IA).

Mittels ELISA konnte gezeigt werden, dass Lenalidomid in Kombination mit CD8⁺ Treg bei Gesunden in der Lage war, die IL-6 Sekretion – während der Expansion myelomspezifischer CD8⁺ T-Zellen – zu inhibieren. Ein Vergleich zwischen Patienten und Gesunden zeigte hierbei keinen Unterschied. Die unterschiedlichen Inkubationszeiten bei den Expansionsphasen, wie auch die Sortierungsmethodiken (MACS bzw. FACS) wiesen keinen relevanten Einfluss auf die IL-6 Sekretion auf.

Durchflusszytometrische Analysen zeigten, dass bei Gesunden nach der Expansionsphase der Anteil von CD8⁺ Treg in Anwesenheit von Lenalidomid in Zelleinsätzen und Co-Kultur signifikant abnahm. Dagegen konnte bei Patientenzellen keine signifikante Veränderung der CD28 Expression festgestellt werden.

Schließlich wurde die IFN- γ bzw. Granzym B Sekretion von myelomspezifisch aktivierten CD8⁺ T-Zellen in ELISPOT-Assays untersucht. Unter Einfluss von CD8⁺CD28⁻ T-Zellen und Lenalidomid war die IFN- γ Sekretion im Vergleich zum Kontrollansatz ohne Lenalidomid signifikant erhöht. Dagegen zeigten sich in Anwesenheit von CD8⁺ Treg und Lenalidomid keine (signifikanten) Veränderungen im Vergleich zum Kontrollansatz ohne Lenalidomid. Dies deutet darauf hin, dass die Effekte von Lenalidomid und CD8⁺ Treg entgegengesetzt sind bzw. sich egalieren. Im Bezug auf die Granzym B Sekretion zeigten sich dagegen keine signifikanten Unterschiede.

Schlussfolgernd soll festgehalten werden, dass in Anwesenheit von CD8⁺ Treg ohne Lenalidomid die höchste IL-6 Konzentration gemessen wurde und Lenalidomid bei Gesunden die IL-6 Sekretion am stärksten inhibierte, sofern CD8⁺ Treg in der Co-Kultur vorhanden waren.

Die in dieser Arbeit präsentierte Abnahme von CD28 bzw. CD8⁺ Treg nach der Expansionsphase, die gleichzeitige Zunahme der CD8⁺CD28⁻ T-Zellen, wie auch die stärkere

myelomspezifische Antwort unter Lenalidomid deuten auf enge Wechselwirkungen zwischen CD8⁺ Treg, Interleukin 6, Lenalidomid und antigenspezifischen CD8⁺ T-Zellen. Während diese Schlussfolgerung im Wesentlichen für Gesundspender gemacht werden können, muss zukünftig weiter untersucht werden, inwiefern diese für die T-Zell-Immunität bei Patienten mit (fortgeschrittenen) Plasmazell Dyskrasien ebenfalls zutreffen. Im Rahmen dieser Anstrengungen und hinsichtlich der hier präsentierten Thematik sollten insbesondere auch Zellen von Patienten mit Multiplen Myelom im Stadium III untersucht werden.

Eine wichtige Herausforderung bei der Erforschung von CD8⁺ Treg und immunmodulatorischen Substanzen bleibt, die in vitro gemachten Ergebnisse zu einem therapeutischen Nutzen für Menschen mit Plasmazellerkrankungen zu übertragen. Die vorgelegte Arbeit liefert einen Baustein für diesen Weg und kann daher bei zukünftigen Bemühungen und Überlegungen in diese Richtung einbezogen werden.