

Theresa Rita Wilhelm
Dr. med.

Identification and characterisation of a Siglec-1⁺ subpopulation of plasmacytoid dendritic cells

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Hanns-Martin Lorenz

Das Immunsystem ist ein komplexes System von Zellen, dessen Funktionieren entscheidend von der Fähigkeit abhängt, Selbst und Nicht-Selbst zu unterscheiden. Ist diese Fähigkeit kompromittiert, entstehen Autoimmunerkrankungen wie der Systemische Lupus Erythematosus (SLE). Eine Schlüsselrolle bei der Steuerung der Immunantwort in Richtung Immunität oder Toleranz kommt plasmazytoiden dendritischen Zellen (pDCs) zu. Sie sind zudem die Hauptproduzenten des wirkungsstarken pro-inflammatorischen Zytokins Interferon- α (IFN- α), welches zentral für die Pathogenese von SLE ist. Bestimmte myeloide Immunzellen exprimieren das Sialinsäure-bindende Immunglobulin-ähnliche Lektin 1 (Siglec-1). Es dient als Surrogatmarker für IFN- α in SLE und ist mit einer toleranzinduzierenden Funktion auf von Monozyten abstammenden dendritischen Zellen assoziiert, wurde jedoch noch nie zuvor auf pDCs beschrieben. Diese Dissertation beschreibt erstmals eine Subpopulation von Siglec-1⁺ pDCs und charakterisiert diese zudem im Bezug auf ihren Phänotyp und ihre Funktion, welche auf eine distinkte Rolle in Immunität und Autoimmunität hinweisen.

Siglec-1⁺ pDCs wurden durch Acht-Farben-Durchflusszytometrie von humanem peripheren Blut, Milz und Tonsille identifiziert. Diese Beobachtung wurde durch konfokale Fluoreszenzmikroskopie von Ausstrichen mononukleärer Zellen des peripheren Blutes sowie von Feinschnitten gefrorenen Tonsillengewebes bestätigt. Durch ihre Negativität für die Zelllinienmarker CD3, CD14 und CD19 und ihre Positivität für BDCA-2, CD123 und HLA-DR wurden die Zellen eindeutig als pDCs identifiziert. Siglec-1⁺ pDCs zeigen einen distinkten Phänotyp in Abgrenzung zu Siglec-1⁻ pDCs; in humanem peripheren Blut sind sie charakterisiert durch eine verminderte Expression von BDCA-2 und CD123, eine verstärkte Expression von HLA-DR und CD86, eine geringe Expression von CD11c, teilweise Expression von CD56 und keine Expression von CD83. Nach In-Vitro-Stimulation mit Imiquimod und CpGA als Liganden für TLR7 bzw. TLR9 wiesen Siglec-1⁺ pDCs zudem keine IFN- α -Expression auf. Zusammen mit dem myeloid-ähnlichen (Siglec-1, CD11c, CD56) und partiell gereiften (BDCA-2^{low} /HLA-DR^{high}/CD86⁺ aber CD123^{low} /CD83⁻) Phänotyp deutet dies auf ein fortgeschrittenes Stadium der Differenzierung von einer professionellen IFN- α -produzierenden Zelle zu einer professionellen antigenpräsentierenden Zelle hin und lässt eine Rolle

in der Entstehung von Toleranz vermuten.

Weitere Experimente weisen darauf hin, dass Siglec-1⁺ pDCs eine distinkte Rolle in Immunität und Autoimmunität spielen. In einem 28-tägigen Follow-up nach primärer Gelbfieberimpfung, welche als Model einer akuten Immunreaktion dient, wurde das Blut der gesunden Probanden mittels Acht-Farben-Durchflusszytometrie analysiert. Siglec-1⁺ und Siglec-1⁻ pDCs wiesen eine deutlich verschiedene Kinetik auf, welche homogen in allen Probanden verlief. In der Autoimmunerkrankung SLE zeigte sich ein signifikant erhöhtes Verhältnis von Siglec-1⁺ zu Siglec-1⁻ pDCs, welches positiv mit der Krankheitsaktivität und der Siglec-1-Expression auf Monozyten korrelierte, jedoch unabhängig von der Prednisolon-Dosis sowie dem Titer von Anti-dsDNA war. In Patienten war die Siglec-1-Expression auf Siglec-1⁺ pDCs signifikant schwächer ausgeprägt als in gesunden Kontrollen. Zur veränderten Homöostase könnten verschiedene Faktoren wie ein verändertes Migrationsverhalten, eine differenziell regulierte Entwicklung der Subpopulationen im Knochenmark oder eine radikale Umwandlung des Zelltyps in der Peripherie sowie eine differenziell regulierte Apoptose beitragen. Die beobachtete reduzierte Ausprägung von Siglec-1 auf pDCs in SLE-Patienten könnte zur gestörten Aufrechterhaltung der Selbst-Toleranz beitragen.

Basierend auf den in jüngster Vergangenheit erreichten Fortschritten der autologen, auf dendritischen Zellen basierten Immuntherapie, die darauf abzielt, die Toleranz in Autoimmunerkrankungen wiederherzustellen, und in Anbetracht des tolerogenen Potenzials von pDCs, ist es von großer Wichtigkeit, die verschiedenen Subpopulationen von pDCs, die eine Rolle in der Regulation von Toleranz spielen könnten, im Detail zu verstehen. Diese Dissertation hat eine solche Subpopulation identifiziert und charakterisiert. Darüber hinaus hat sie Hypothesen zu deren Ursprung und Funktion aufgestellt, die in Folgestudien getestet werden sollten. Einige Ergebnisse dieser Arbeit wurden bereits in Wilhelm u. a. (2016) publiziert.