

## - Zusammenfassung -

Joscha Vonderlin

Dr. med.

### **The impact of a manifold microbiological environment on tissue macrophage distribution maintenance and function**

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Florian Leuschner

Die Maus ist zum vorherrschenden Tiermodell in der biomedizinischen Forschung geworden, da sie es den Forschern ermöglicht, reduktionistische Experimente an genetisch manipulierten Mauslinien unter relativ konstanten Bedingungen durchzuführen. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen, werden die Tiere unter spezifischen pathogenfreien Bedingungen (SPF) gehalten. Diese künstlich saubere Umgebung rekapituliert jedoch nicht die menschlichen Lebensbedingungen, und daher wächst die Besorgnis über die Übertragbarkeit von Mäusexperimenten auf den Menschen. Jüngste Arbeiten haben gezeigt, dass die Normalisierung der Umgebung durch Co-Housing den CD8<sup>+</sup> T-Zell-Differenzierungszustand von einem naiven zu einem reiferen Phänotyp verändert (Beura et al. 2016). Die vorliegende Studie ist die erste, die zeigt, wie eine mikrobiologische Umgebung die Erhaltung und Funktion von Gewebemakrophagen beeinflusst.

Um dies zu untersuchen, wurde zuerst die Zahl der Blutmonozyten und Gewebemakrophagen in Labormäusen und kommerziellen Haustierhaltungsmäusen, die eine Vielzahl von Mauspathogenen tragen, untersucht. Die beiden Gruppen wiesen ein verändertes Blut Leukozytenprofil sowie signifikante Unterschiede in der Makrophagenzahl in verschiedenen Geweben auf. Da Haustiermäuse jedoch nicht durch Inzucht vermehrt werden, kann die genetische Vielfalt zu den beobachteten Unterschieden beitragen. Um diese verzerrende Variable auszuschließen, wurden weitere Experimente ausschließlich an Inzucht-Labormäusen durchgeführt. Eine mikrobiologische Umgebung wurde durch das Einführen dreckigen Streu in Käfige der Versuchsgruppe simuliert. Im Vergleich zu den SPF-Kontrollen wiesen Mäuse, die 30 Tage lang Streustransfer erhielten, signifikant höhere Zahlen von Ly6Chi-Monozyten, LPMs in der Bauchhöhle und IMs in der Lunge auf. Im Gegensatz dazu wurde in kardiovaskulären Geweben eine Abnahme der Lyve-1<sup>+</sup>-Makrophagen beobachtet. Sowohl die KCs der Leber als auch die SPMs in der Milz waren nicht verändert, was darauf hindeutet, dass die Auswirkungen mikrobieller Exposition verschiedene Makrophagen-Populationen unterschiedlich beeinflussen. Während die beobachteten Unterschiede im Blut, Peritoneum und in der Lunge fortbestanden, kehrten die Makrophagen in kardiovaskulärem Gewebe später wieder zu homöostatischen Bedingungen zurück.

Um die Mechanismen aufzuklären, die zu den beobachteten Veränderungen der Gewebemakrophagenzahl führen, wurden Pulsmarkierungsexperimente, Parabiose und Lineage-Tracing-Modelle durchgeführt. Die Verwendung des H2B-GFP-Modells deutete darauf hin, dass eine verstärkte Proliferationsaktivität der Hauptfaktor für die Zunahme der Makrophagenzahlen ist. Bemerkenswert war auch der höhere Umsatz bei

Makrophagen, die keine Unterschiede in der Populationsgröße aufwiesen, wie z.B. Leber-KCs und SPMs. Parabiose und *Flt3<sup>Cre</sup> × Rosa<sup>mTmG</sup>*-Linienverfolgungsexperimente bestätigten, dass die Monozytenrekrutierung nicht für den Anstieg der Makrophagenzahlen verantwortlich war, da zwischen SPF- und bedding transfer-Empfängermäusen keine Veränderung des Gewebe-Makrophagen-Chimärismus oder der Markierung beobachtet wurde.

Das angeborene Immungedächtnis beschreibt den Schutz vor nicht verwandten Krankheitserregern nach vorheriger Infektion (Netea et al. 2016). Die mikrobielle Exposition änderte jedoch nicht den Verlauf der Sepsis in einem polymikrobiellen Peritonitis-Modell CLP. Darüber hinaus wurde vermutet, dass die Infektionen durch Mikroorganismen und Begleitinfektionen die Entwicklung und den Verlauf von Atherosklerose beeinflussen können (Jonsson und Bäckhed 2017). Unter Verwendung eines *Ldlr<sup>-/-</sup>* Mausmodells zeigten die Empfängermäuse während der frühen Atherogenese eine geringere Plaquebelastung. Dieser schützende Effekt wurde jedoch zu späteren Zeitpunkten nicht beobachtet, was darauf hindeutet, dass mikrobielle Exposition zwar die Entwicklung von Atherosklerose, nicht aber das Fortschreiten bei etablierter Krankheit beeinflusst.

Phagozytose und Zytokinproduktion sind zwei wichtige Merkmale von Makrophagen. Darüber hinaus beschreiben die Begriffe trainierte Immunität und angeborene Immuntoleranz eine verstärkte oder abgeschwächte Zytokinproduktion bei Stimulation mit PRR-Liganden nach initialer Pathogenexposition (Butcher et al. 2018). Daher wurden *in vivo* und *in vitro* Experimente an peritonealen Makrophagen durchgeführt, um zu untersuchen, ob mikrobielle Exposition diese Schlüsselfunktionen beeinflusst. SPMs zeigten eine leicht erhöhte phagozytische Fähigkeit gegenüber *gram*-negativen Komponenten. SPMs machen jedoch einen kleinen Anteil peritonealer Makrophagen aus. Weiterhin unterschied sich die *in vitro* Zytokinproduktion bei Stimulation mit einer Vielzahl von TLR-Liganden nur leicht zwischen den beiden Gruppen. Die bedding transfer Empfängermäuse produzierten weniger TNF $\alpha$  24h nach Stimulation mit Pam3CSK4.

Insgesamt ist die vorliegende Studie die erste, die untersucht, wie die Erhaltung und Funktion von Makrophagen durch die mikrobielle Exposition beeinflusst wird.