

Jan Christoph Schumacher
Dr. med.

Neutrophile Granulozyten Subgruppen als potenzielle Regulatoren der adaptiven Immunantwort

Fach/Einrichtung: Immunologie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Guido Wabnitz

Neutrophile Granulozyten sind die zahlenmäßig größte Population an Leukozyten im peripheren Blut und nehmen als erste Verteidigungslinie des angeborenen Immunsystems eine zentrale Rolle in der Abwehr pathogener Erreger ein. In den letzten Jahren hat sich das Verständnis dieser Zellen gewandelt, neutrophile Granulozyten werden nicht länger als ausdifferenzierte Zellen ohne transkriptionelle Aktivität angesehen. Es konnte gezeigt werden, dass neutrophile Granulozyten nach dem Kontakt mit proinflammatorischen Zytokinen eine verlängerte Überlebensdauer aufwiesen und in der Lage waren, ihre Effektorfunktionen zu steigern sowie neue Oberflächenproteine zu exprimieren. Diese Effekte haben zur Folge, dass neutrophilen Granulozyten im Rahmen von chronisch entzündlichen Prozessen eine Vielzahl an phänotypisch sowie funktionell verschiedenen Populationen ausbilden. Aufgrund dieser Diversifizierung des Zelltyps ist man dazu übergegangen, neutrophile Granulozyten nicht länger als uniforme Zellen, sondern als ein Konglomerat verschiedener Zell-Subgruppen zu betrachten. Einzelne dieser Subgruppen sind in der Lage durch das Ausbilden eines dem von antigenpräsentierenden Zellen ähnelnden Phänotyps direkten Einfluss auf die adaptive Immunantwort zu nehmen und bilden somit eine Schnittstelle zwischen der angeborenen und der adaptiven Immunantwort. Anhand welcher Marker sich einzelne Subgruppen von neutrophilen Granulozyten phänotypisch differenzieren lassen und wie sie an der Entstehung und Aufrechterhaltung von chronisch entzündlichen Prozessen beteiligt sind, war bislang noch wenig erforscht, obwohl eine genauere Analyse der Interaktion zwischen neutrophilen Subgruppen und der adaptiven Immunantwort das Potenzial für ein tieferes Verständnis von chronisch entzündlichen Prozessen birgt.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden daher Subgruppen von neutrophilen Granulozyten im entzündlichen Milieu anhand des Expressionsprofils ihrer Chemokinrezeptoren charakterisiert. Es konnte gezeigt werden, dass sich im Zuge eines Primings mit IFN- γ + GM-CSF eine Subgruppe von neutrophilen Granulozyten definieren lässt, die den CCR5 Chemokinrezeptor auf der Zelloberfläche exprimiert. Eine Untersuchung der Prävalenz dieser CCR5⁺ neutrophilen Granulozyten in chronisch inflammatorischen Krankheitsbildern konnte einen erhöhten Anteil dieser Zellen im peripheren Blut von Patienten mit familiärem Mittelmeerfieber und Colitis ulcerosa nachweisen. Hierbei gelang es eine positive Korrelation zwischen dem Anteil an CCR5⁺ neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut und Prädiktoren eines schweren Krankheitsverlaufs zu zeigen. Anhand von Darmbiopsaten von Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen konnten in Immunofluoreszenzfärbungen

CCR5⁺ neutrophile Granulozyten im Darm von Patienten mit Colitis ulcerosa nachgewiesen werden, wo sie eine vermehrte Tendenz zur NETose zeigten. Im Anschluss an diese Arbeit konnte dieses Ergebnis durch weiterführende Experimente bestätigt werden.

Auf den bei chronisch inflammatorischen Krankheitsbildern gewonnenen Ergebnissen aufbauend wurde in einem zweiten Schritt der Einfluss des Mikromilieus auf die Induktion von CCR5⁺ neutrophilen Granulozyten sowie die Expression von costimulatorischen und coinhibitorischen Oberflächenproteinen *in vitro* genauer untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass neutrophile Granulozyten in Abhängigkeit des Mikromilieus ein pro- oder ein antiinflammatorisches Profil an Oberflächenproteinen exprimieren und sich hinsichtlich ihrer potenziellen Kapazität zur Modulation der T-Zell-Aktivität unterscheiden. So zeigten mit TNF- α geprimte Zellen eine erhöhte Expression von HLA-DR (MHC-II) sowie costimulatorischer Oberflächenproteine und besaßen damit putativ eine stärkere Fähigkeit zur Antigenpräsentation. Ferner konnte an dieser Stelle erstmals die Expression von ICOS-L auf neutrophilen Granulozyten beschrieben werden, dessen Expression ebenfalls auf neutrophilen Granulozyten in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit Arthrose nachgewiesen werden konnte. Mit IFN- γ + GM-CSF geprimte neutrophile Granulozyten waren in der Lage, die T-Zell-Proliferation PD-L1 abhängig zu supprimieren. Die Expression von PD-L1 war jedoch nicht in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit Arthrose erhöht, was nahelegt, dass neutrophile Granulozyten in der Synovialflüssigkeit von Arthrose Patienten eher zu einer Exaggeration als zu einer Abmilderung der Entzündung beitragen.

Zusammenfassend wurde in dieser Arbeit die Beobachtung gemacht, dass im Rahmen des Primings von neutrophilen Granulozyten phänotypisch verschiedene Subgruppen induziert wurden, die anhand der Expression von CCR5, ICOS-L und PD-L1 voneinander abgegrenzt werden konnten. Mit diesen Subgruppen konnten drei Akteure im Geschehen von chronisch entzündlichen Prozessen aufgezeigt werden, deren weiterführende Untersuchung dabei helfen könnte, die Rolle von neutrophilen Granulozyten im Rahmen chronisch entzündlicher Prozesse besser zu verstehen.