

Leonardo Felix Costa

Dr. med.

**B-cell transmigration through the blood-cerebrospinal fluid barrier:
characterization of gene regulation in vitro and in vivo**

Neurologie

Doktormutter: Prof. Dr. med. Brigitte Wildemann

B-Zellen spielen eine zentrale Rolle in der Pathogenese der Multiplen Sklerose. B-Zell-Invasion des Liquors ist ein wichtiges pathologisches Kennzeichen dieser Erkrankung. Wie in vorherigen Studien beschrieben, kommt es im Liquor von Patienten mit Multipler Sklerose zu einer Anreicherung von hauptsächlich klassengewechselte Gedächtnis-B-Zellen. Die Mechanismen, die die Migration von B-Zellen durch die Blut-Liquor-Schranke regulieren, sind jedoch nur unvollständig erforscht. Um diese Mechanismen näher zu charakterisieren, wurde ein in vitro Modell des Plexus choroideus anhand eines invertierten Zellkultursystems mit humanen Plexus choroideus Papillomazellen erstellt. B-Zellen, sowohl aus Blutproben von gesunden Probanden und Patienten mit Multipler Sklerose isoliert, migrierten unter dem Einfluss eines Chemokingradientes aus CXCL12 und CXCL13 durch dieses in vitro Modell der Blut-Liquor-Schranke. Migrierte B-Zellen wurden anschließend anhand Durchflußzytometrie und quantitativer Echtzeit-Polymerasekettenreaktion analysiert. Insgesamt wurden 19 Gene analysiert, die in der Aktivierung und Regulierung von B-Zellen, sowie in deren Chemotaxis involviert sind. B-Zell-Phänotyp und Genregulationsprofile wurden ebenfalls in vivo untersucht, indem intrathekale B-Zellen aus Liquorproben von Patienten mit Multipler Sklerose isoliert und analysiert wurden. Erkenntnisse von in vitro Transmigrationsexperimenten zeigten eine Migration von hauptsächlich

klassengewechselte Gedächtnis-B-Zellen. Migrierte B-Zellen zeigten eine signifikante Hochregulierung von Aktivierungsgenen wie CD27 und CD80, sowie von den Chemokinrezeptoren CXCR4 und CXCR5. Migrierte B-Zellen, die aus gesunden Kontrollen isoliert wurden, zeigten zusätzlich eine Runterregulierung des antiapoptotischen Bcl-2. Migrierende B-Zellen, die aus Proben von Patienten mit Multipler Sklerose stammten, regulierten stattdessen Interleukin 10 hoch. Intrathekale B-Zellen von Patienten mit multipler Sklerose spiegelten das genregulatorische Verhalten von Aktivierungsgenen, CXCR4 und CXCR5. Jedoch regulierten sie zusätzlich CD40 und MS4A1 herab, sowie den Aktivierungsmarker CD81 hoch. Diese Erkenntnisse untermauern die Rolle der Blut-Liquor-Schranke als eine wichtige Eintrittspforte für schädliche Immunzellen in das zentrale Nervensystem. Die pathogenischen Mechanismen scheinen hauptsächlich von klassengewechselte Gedächtnis-B-Zellen zu stammen. Die Anreicherung von CD27⁺/IgD- klassengewechselte Gedächtnis-B-Zellen während der Multiplen Sklerose, sowie die genetische Regulationsprofile in vitro und in vivo, bekräftigen diese Schlussfolgerung. Zusätzlich wirft die Hochregulierung der Chemokinrezeptoren CXCR4 und CXCR5 weiteres Licht auf die Mechanismen, die die B-Zell-Invasion des Liquors regulieren. Vor allem die CXCL13/CXCR5-Achse, zeigt sich als ein potenzielles therapeutisches Ziel für die Multiple Sklerose.