

Anna Hafner
Dr. med.

Impact of a temporary depletion of Regulatory T cells on atherosclerotic lesion development

Fach/Einrichtung: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. Christian Erbel

Atherosklerose und deren klinische Folgeerkrankungen wie Myokardinfarkt und Schlaganfall zählen gemäß Statistiken der Weltgesundheitsorganisation WHO zu den Haupttodesursachen in westlichen Industrienationen. Sie wird heutzutage als chronisch-inflammatorischer Prozess in der Gefäßwand angesehen, welcher bevorzugt an Stellen turbulenten Blutflusses auftritt. Verschiedenste Zellen der angeborenen und adaptiven Immunantwort wie Makrophagen, B- und T-Zellen sind in atherosklerotischen Läsionen nachzuweisen und spielen womöglich eine entscheidende Rolle für das Voranschreiten des Plaque-Wachstums. So fördern proinflammatorische Typ-1 T-Helferzellen die Entwicklung atherosklerotischer Läsionen, während anti-inflammatorische Zellen wie Typ-2 T-Helferzellen diesem entgegenwirken und das Plaqueswachstum verlangsamen. Eine andere Subgruppe von T-Lymphozyten, sogenannte Regulatorische T-Zellen, erwiesen sich in den letzten Jahren als unabdingbar für die Regulation der Immunzellhomöostase und der Aufrechterhaltung der Immuntoleranz. Diese T-Lymphozyten exprimieren typischerweise den Transkriptionsfaktor Forkhead-Box-Protein P3 und spielen nachweislich eine Rolle bei der Entstehung von verschiedensten Autoimmunerkrankungen. Bisherige Studien konnten zeigen, dass eine kontinuierliche Inhibition Regulatorischer T-Zellen die Entstehung atherosklerotischer Läsionen fördert. Jedoch wurde bisher nicht untersucht, ob eine kurze Dysbalance der Regulatorischen T-Zell Immunität die Atherogenese wesentlich beeinflusst.

Das Ziel dieser Studie war deshalb, den Einfluss einer zeitlich begrenzten Unterbrechung der Regulatorischen T-Zell Immunität auf die Entwicklung atherosklerotischer Läsionen sowie auf die Plaquestabilität und die inflammatorischen Prozesse im zeitlichen Verlauf zu untersuchen. Dafür wurde ein Mastransplantationsmodell etabliert, in welchem LDLr^{-/-} Mäuse nach Bestrahlung Knochenmark von FoxP3.LuciDTR-4 Mäusen erhielten. Bei Letzteren kann eine Depletion der Regulatorischen T-Zell-Population von circa 95 % mittels Injektion von Diphtherietoxin erzielt werden, wobei sich das Regulatorische T-Zell Kompartiment innerhalb von zwei Wochen vollständig regeneriert. Die Mäuse wurden zu verschiedenen Zeitpunkten bis zu 16 Wochen nach Diphtherietoxintherapie euthanasiert. Systemische Zytokinlevel sowie Cholesterinwerte wurden bestimmt und die Zytokinexpression in atherosklerotischen Läsionen analysiert. Darüber hinaus wurde das Plaquesvolumen, die Plaquestabilität und die läSIONALE Infiltration mit Immunzellen mittels Immunhistochemie evaluiert. Gleichzeitig wurde die zelluläre Zusammensetzung der Lymphknoten durchflusszytometrisch untersucht.

Eine zeitlich begrenzte Depletion des Regulatorischen T-Zell Kompartiments führte in dieser Studie zu einer signifikanten Beschleunigung der Plaqueeentwicklung nach acht Wochen. So wurde in depletierten Mäusen eine maximale Stenose von 37,9 % gemessen, bei Kontrolltieren betrug diese nur 31,5 %. Gleichzeitig war die Fläche der atherosklerotischen Läsion mit 543,9 μm^2 im Vergleich zu Kontrolltieren mit 385,2 μm^2 stark vergrößert. Darüber hinaus resultierte

der vorübergehende Verlust der Regulatorischen T-Zell Immunität in einer signifikant erhöhten Plaquesvulnerabilität. Während sich die Unterschiede in der Plaquesgröße im zeitlichen Verlauf nach Depletion der Regulatorischen T-Zellen abschwächen und in fortgeschrittenen atherosklerotischen Läsionen nicht mehr nachweisbar waren, war die Plaquestabilität auch 16 Wochen nach Unterbrechung der Regulatorischen T-Zell Immunität in Diphtherietoxin-behandelten Tieren wesentlich beeinträchtigt. Dahingegen wurde in frühen atherosklerotischen Läsionen eine verminderte Immunzellinfiltration sowie eine reduzierte Expression von Adhäsionsmolekülen beobachtet. Darüber hinaus wiesen Mäuse in der frühen Phase nach Depletion erhöhte systemische Zytokin- und Chemokinspiegel auf, was auf eine verstärkte systemische Inflammationsreaktion hindeutet. Gleichzeitig zeigte sich in den atherosklerotischen Läsionen eine lokale Hochregulation der Expression von proinflammatorischen Zytokinen. Mit der Rekonstitution des Regulatorischen T-Zell Kompartiments normalisierte sich die proinflammatorische Zytokinexpression und es wurde eine gesteigerte Expression des anti-inflammatorischen Zytokins TGF- β in den Läsionen beobachtet. Interessanterweise war die lokale Expression des proinflammatorischen IFN γ , welches typischerweise von Typ-1 T-Helferzellen gebildet wird, während des gesamten Beobachtungszeitraums erhöht. Die Analyse der zellulären Zusammensetzung der lokalen Lymphknoten ergab außerdem einen erhöhten Anteil aktivierter T-Zellen in der frühen Phase nach Regulatorischer T-Zell-Depletion.

Zusammenfassend wurde gezeigt, dass eine kurze Unterbrechung der Homöostase der Regulatorischen T-Zell Immunität in der frühen Phase der Atherogenese eine vorübergehende Beschleunigung der Plaquesentwicklung verursacht. Bemerkenswerterweise kommt es gleichzeitig zu einem deutlichen Verlust der Plaquestabilität über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg unabhängig von der Erholung der Regulatorischen T-Zell Population, vermutlich unter dem Einfluss einer konstant erhöhten läsionalen IFN γ -Expression. Die Depletion der Regulatorischen T-Zellen führt zudem zu einer reduzierten Immunzellinfiltration in frühen atherosklerotischen Läsionen sowie einer verminderten Expression von Adhäsionsmolekülen. Dies kann durch einen anti-inflammatorischen Rebound erklärt werden, welcher durch die Erholung des Regulatorischen T-Zell Kompartiments initiiert wird und folglich das Gleichgewicht von Proinflammation in Richtung Anti-Inflammation verschiebt. Die vorliegende Studie unterstreicht die Bedeutung der Regulatorischen T-Zell Homöostase für die Stabilität atherosklerotischer Plaques und zeigt das Potential Regulatorischer T-Zell-gerichteter Therapien im Kampf gegen Atherosklerose und deren klinische Folgeerkrankungen auf.