

Petra Trübswetter
Dr. med.

Das T-Zell-Rezeptor-V β -Repertoire von immunregulatorischen T-Zellen bei der Multiplen Sklerose: Untersuchungen mit Hilfe der Technik des CDR3-Spectratyping

Promotionsfach: Neurologie
Doktormutter: Frau Prof. Dr. med. Brigitte Wildemann

Die Enzephalomyelitis disseminata, auch Multiple Sklerose genannt, ist eine chronisch-entzündliche demyelinisierende Erkrankung des zentralen Nervensystems. Sie gehört zu den häufigsten neurologischen Erkrankungen und wird zu den Autoimmunkrankheiten gezählt. Der Verlauf der Erkrankung ist variabel und beginnt meist im jungen Erwachsenenalter. Nach wie vor ist die Ursache der Erkrankung nicht geklärt.

Eine wichtige Leistung unseres Immunsystems ist es, zwischen „fremd“ und „eigen“ unterscheiden zu können. Es gilt, den Organismus effektiv gegen eindringende Pathogene zu schützen, nicht aber körpereigene Antigene anzugreifen. Falls Letztere Ziel einer Immunantwort werden, entsteht eine Autoimmunerkrankung. Ein wichtiger Baustein in der Kontrolle autoreaktiver T-Zellen sind regulatorische T-Zellen vom CD4⁺CD25^{high}FOXP3⁺CD127^{low}-Phänotyp, deren Genese im Thymus erfolgt. In mehreren Arbeiten konnte gezeigt werden, dass von Patienten gewonnene regulatorische T-Zellen die T-Zell-Proliferation signifikant weniger inhibieren als regulatorische T-Zellen von gesunden Personen. Darüber hinaus konnte nachgewiesen werden, dass bei ED-Patienten mutmaßlich eine Alteration der Thymusexportfunktion und in deren Folge im peripheren Blut ein Ungleichgewicht in der Homöostase naiver T-Zellen vorliegen. Diese beiden Beobachtungen legen den Verdacht nahe, dass die bei ED-Patienten beobachtete Dysfunktion der regulatorischen T-Zellen ursächlich mit einer gestörten Neogenese im Thymus in Zusammenhang stehen könnte. Die Folge davon könnte ein eingeschränktes Treg-Rezeptorrepertoire in der Peripherie sein. Das Rezeptorrepertoire kann mit Hilfe des CDR3-Spectratyping untersucht werden. Die CDR3-Region ist die Region des T-Zell-Rezeptors, die für die spezifische Antigenerkennung am wichtigsten ist. Aufgrund ihrer Entstehung unterliegt sie einem natürlichen Längenpolymorphismus. Ein polykonales T-Zell-Repertoire enthält CDR3-Regionen unterschiedlicher Längen, die einer Gaußschen Normalverteilung unterliegen. Beim Menschen gibt es 24 Familien von V β -Genabschnitten, die für den variablen Teil des TCR stehen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden Blutproben von 28 Patienten mit schubförmig verlaufender ED und 32 gesunden Kontrollpersonen untersucht. Nach Isolation der CD4⁺CD25^{high} regulatorischen T-Zellen wurden durchflusszytometrische Untersuchungen durchgeführt, um die isolierten Zellen zu überprüfen. Sowohl in der Reinheit als auch in der Häufigkeit der CD4⁺CD25^{high} regulatorischen T-Zellen bestand bei ED-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen kein signifikanter Unterschied. Um auszuschließen, dass eventuell gefundene Unterschiede darauf beruhen, dass bei ED-Patienten auch andere T-Zell-Reihen, so zum Beispiel die Effektorzellen verändert sind, wurden zusätzlich Effektor-T-Zellen von Patienten und gesunden Kontrollen untersucht. Nach Durchführen einer CDR3-PCR und einer anschließenden Fragmentanalyse wurde in einer ersten Analyse der relative Anteil jeder V β -Subfamilie am Gesamtrepertoire der jeweiligen Probe bestimmt. Es zeigte sich in keiner Zellpopulation ein signifikanter Unterschied im Verteilungsmuster zwischen ED-Patienten und gesunden Kontrollen. Auch eine Auswertung im Hinblick auf ein Skewing innerhalb der einzelnen Gruppen zeigte keine signifikanten Unterschiede, und ein komplettes

Fehlen einzelner Subgruppen als Normvariante trat in beiden Gruppen mit vergleichbarer Häufigkeit auf, was einen weiteren Beweis für die Validität der Methode darstellt.

Um Veränderungen in der Klonalität detaillierter zu erfassen, wurde der Complexity Score jeder einzelnen V β -Subfamilie bestimmt, indem die Peaks jedes einzelnen Histogrammes addiert wurden. Im Vergleich zu gesunden Kontrollen zeigte sich in der Gruppe der ED-Patienten ein signifikant niedrigerer Complexity-Score als Ausdruck einer eingeschränkten Klonalität. In der Gruppe der therapierten Patienten wie auch in allen anderen Gruppen konnte dieser Unterschied nicht gezeigt werden. Aufgrund der kleinen Fallzahl in der Therapiegruppe erscheint eine Interpretation im Sinne einer Verbesserung der Klonalität durch die Therapie jedoch nicht zulässig.

Der Nachweis eines statistisch signifikant niedrigeren Complexity Score in der therapienaiven Patientengruppe unterstützt zusammen mit den Vorbefunden aus unserer Arbeitsgruppe die Vermutung, dass es sich bei ED-Patienten um eine veränderte T-Zell-Homöostase im Kompartiment der Treg handelt, die mit einer gestörten Neogenese im Thymus zusammenhängen könnte. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um diese These zu untermauern und genauer zu verstehen, wie diese Dysfunktion der Treg bei MS unterhalten wird und wo Ansatzpunkte liegen könnten, um diese in der Zukunft eventuell auch therapeutisch beeinflussen zu können.