

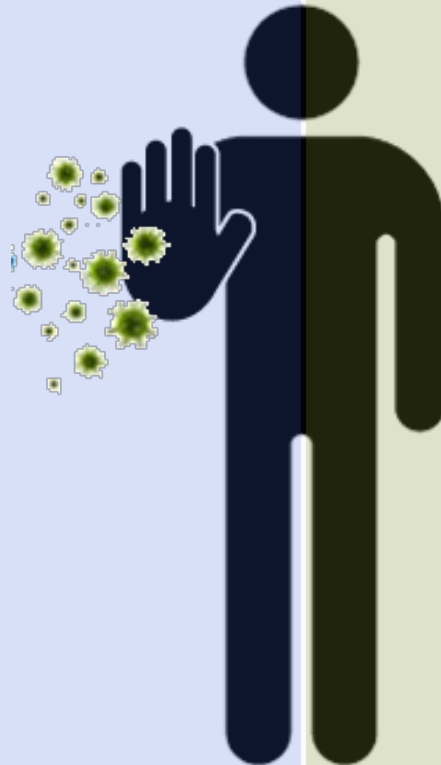
Regulatorische T-Zellen und ihre Bedeutung bei verschiedenen immunologischen Erkrankungen

Dr. rer. nat. Anne Schönbrunn

IMD Berlin MVZ

Die Aufgaben des Immunsystems

Immunität



Toleranz

Ausbalanciertes Immunsystem

Immunität

Toleranz



- Schutz vor infektiösen Stoffen
- Verhindern von Autoimmunität
- Schutz vor Allergien
- effektive Tumormunität

Unausgewogenes Immunsystem

Immunität

Toleranz

- Autoimmunität
- unkontrollierte Immunreaktion

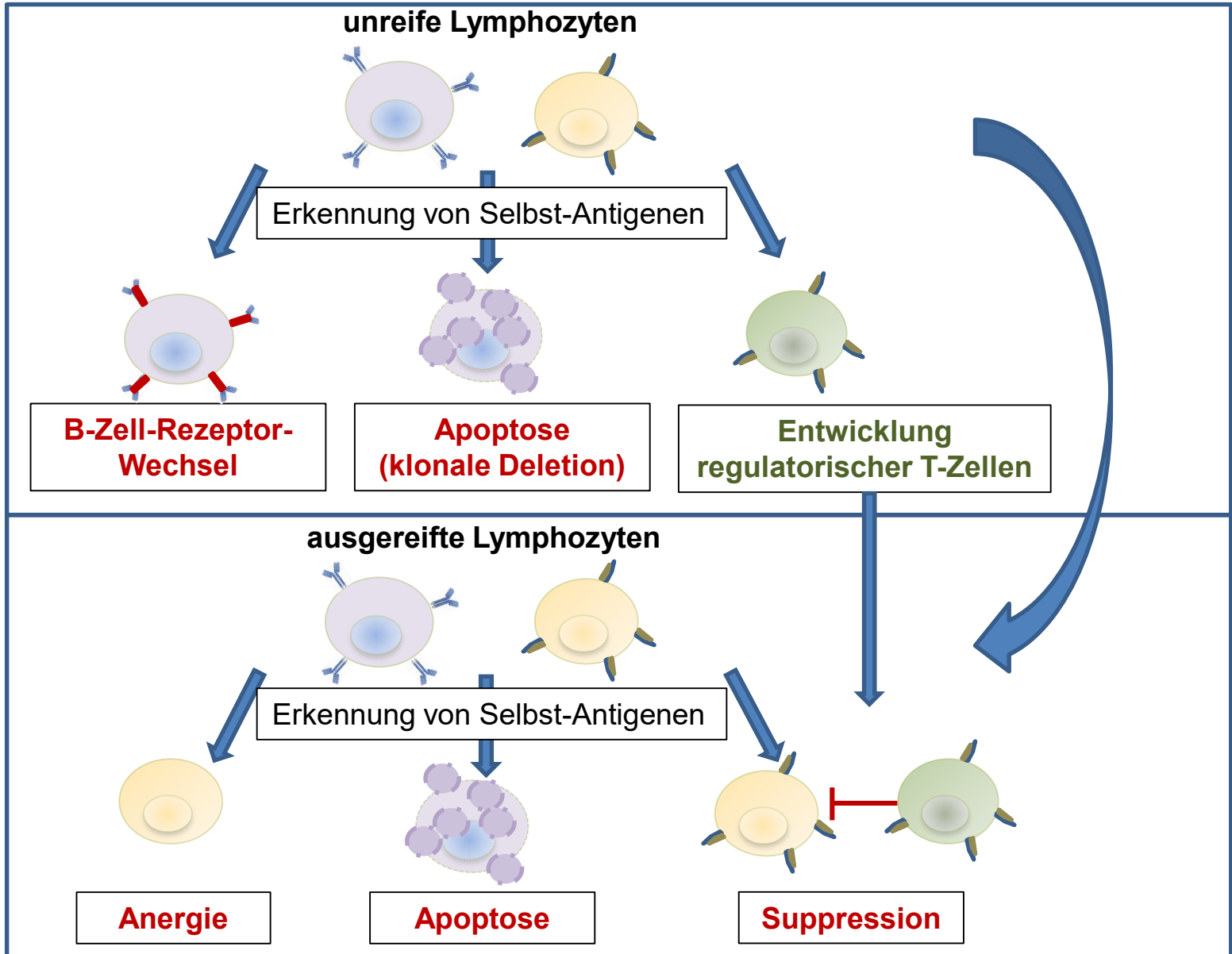
Toleranz

Immunität

- Persistenz von Pathogenen
- Etablierung von Tumoren

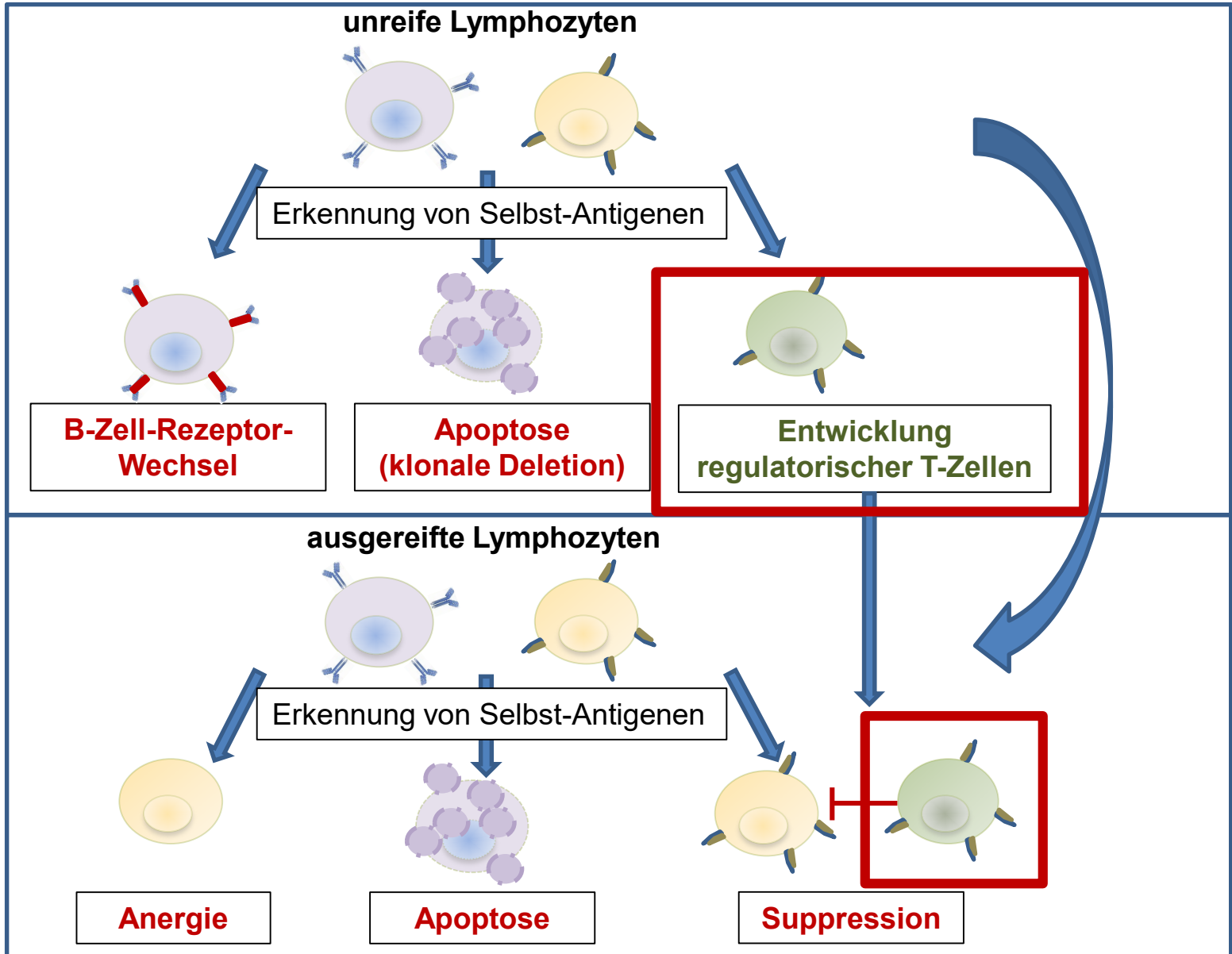
Toleranzmechanismen

Zentrale Toleranz:
Knochenmark, Thymus



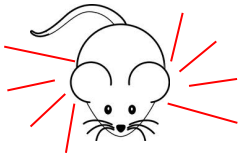
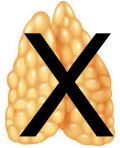
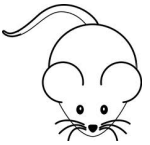
Toleranzmechanismen

Zentrale Toleranz:
Knochenmark, Thymus



Geschichte der Regulatorischen T-Zellen (Treg)

1969

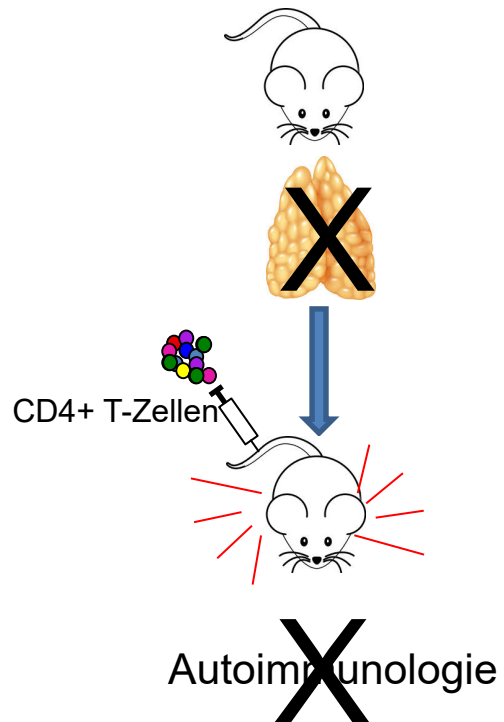


Autoimmunologie

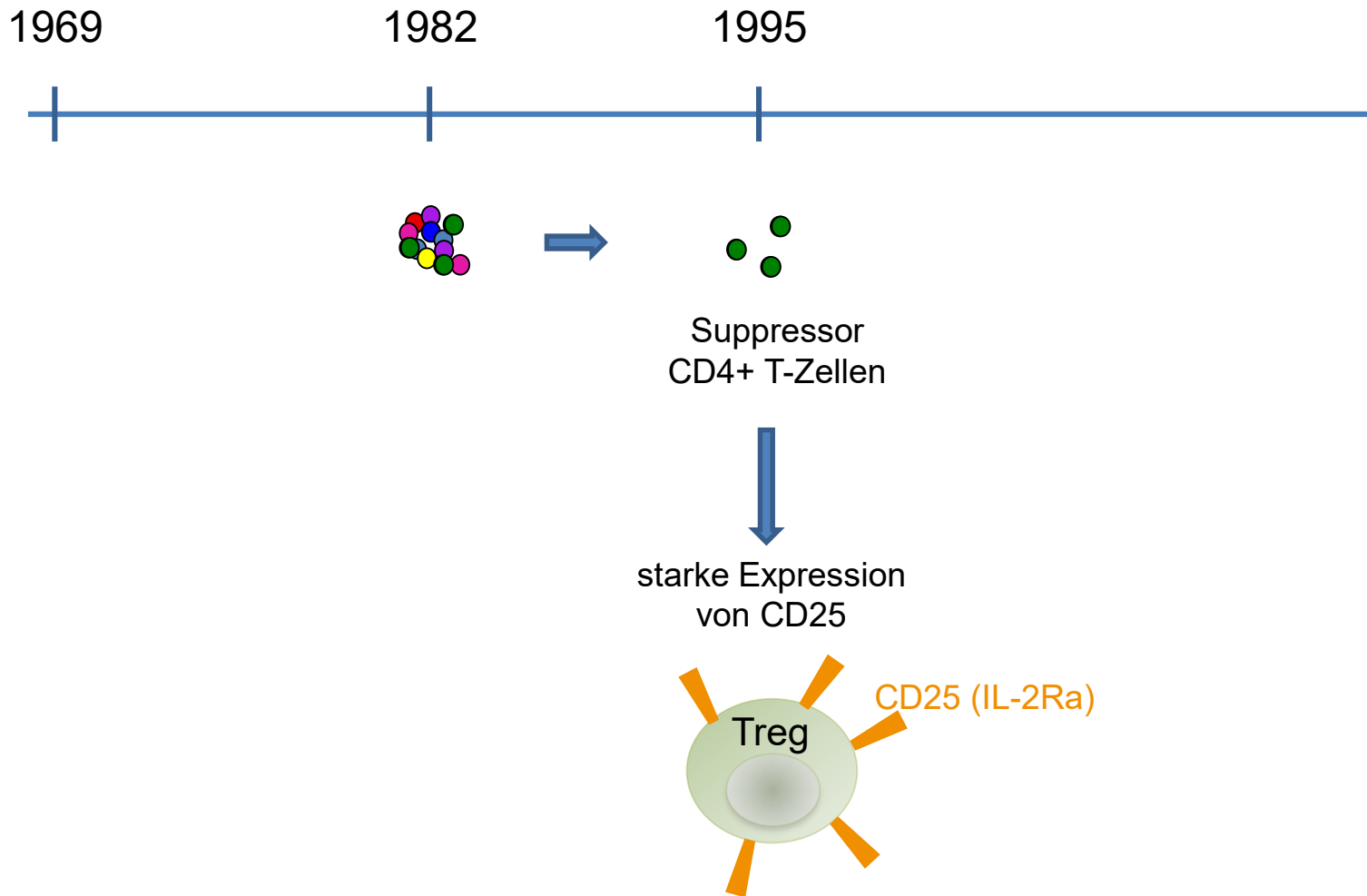
Geschichte der Regulatorischen T-Zellen (Treg)

1969

1982



Geschichte der Regulatorischen T-Zellen (Treg)



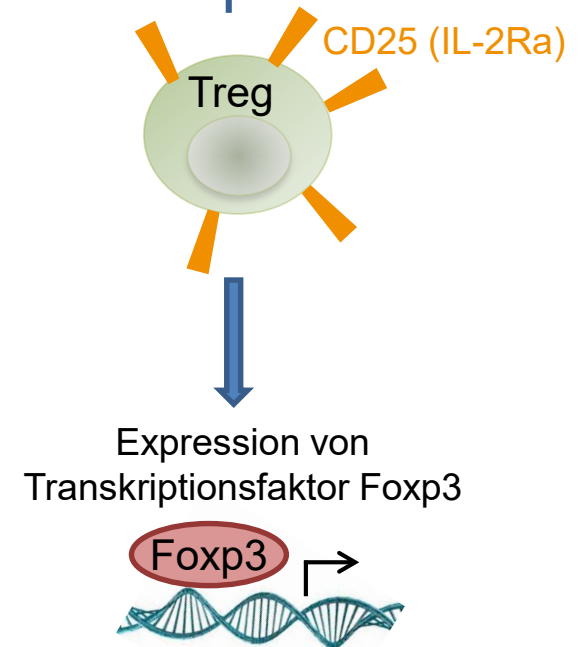
Geschichte der Regulatorischen T-Zellen (Treg)

1969

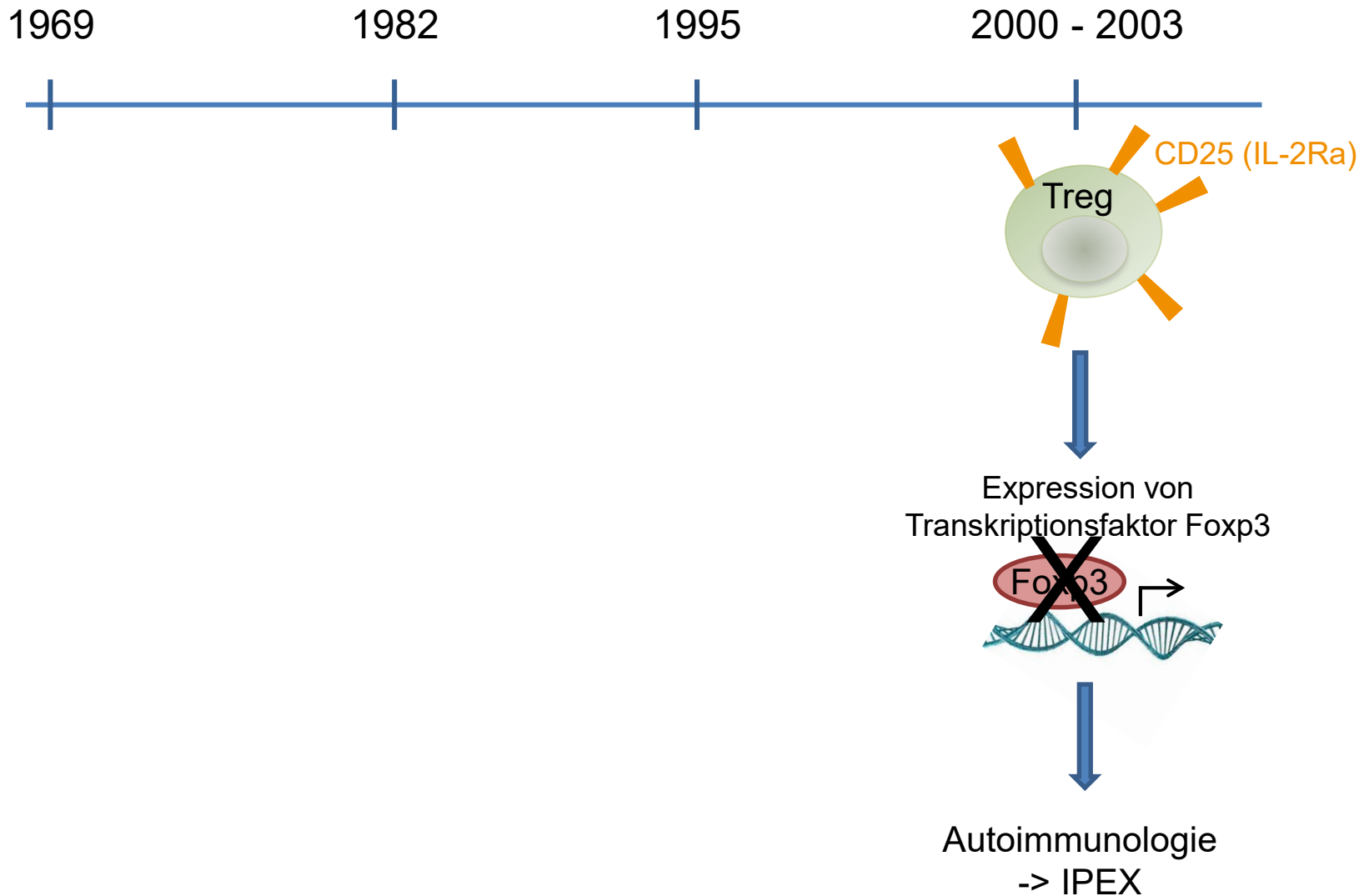
1982

1995

2000 - 2003

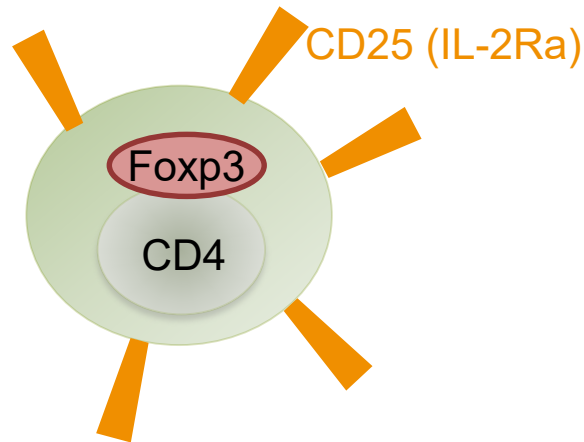


Geschichte der Regulatorischen T-Zellen (Treg)



IPEX: Immune Dysregulation , polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked

Regulatorische T-Zellen (Treg)



- Foxp3+ Expression
 - > wichtig für Entwicklung und Funktion sowie Stabilität und Plastizität der Treg
- Typische Oberflächenmarker: **CD25⁺⁺**, **CD127^{+/-}**, CTLA-4⁺.....
- Im peripheren Blut ca. 5-10% der gesamten CD4⁺ T-Zellen

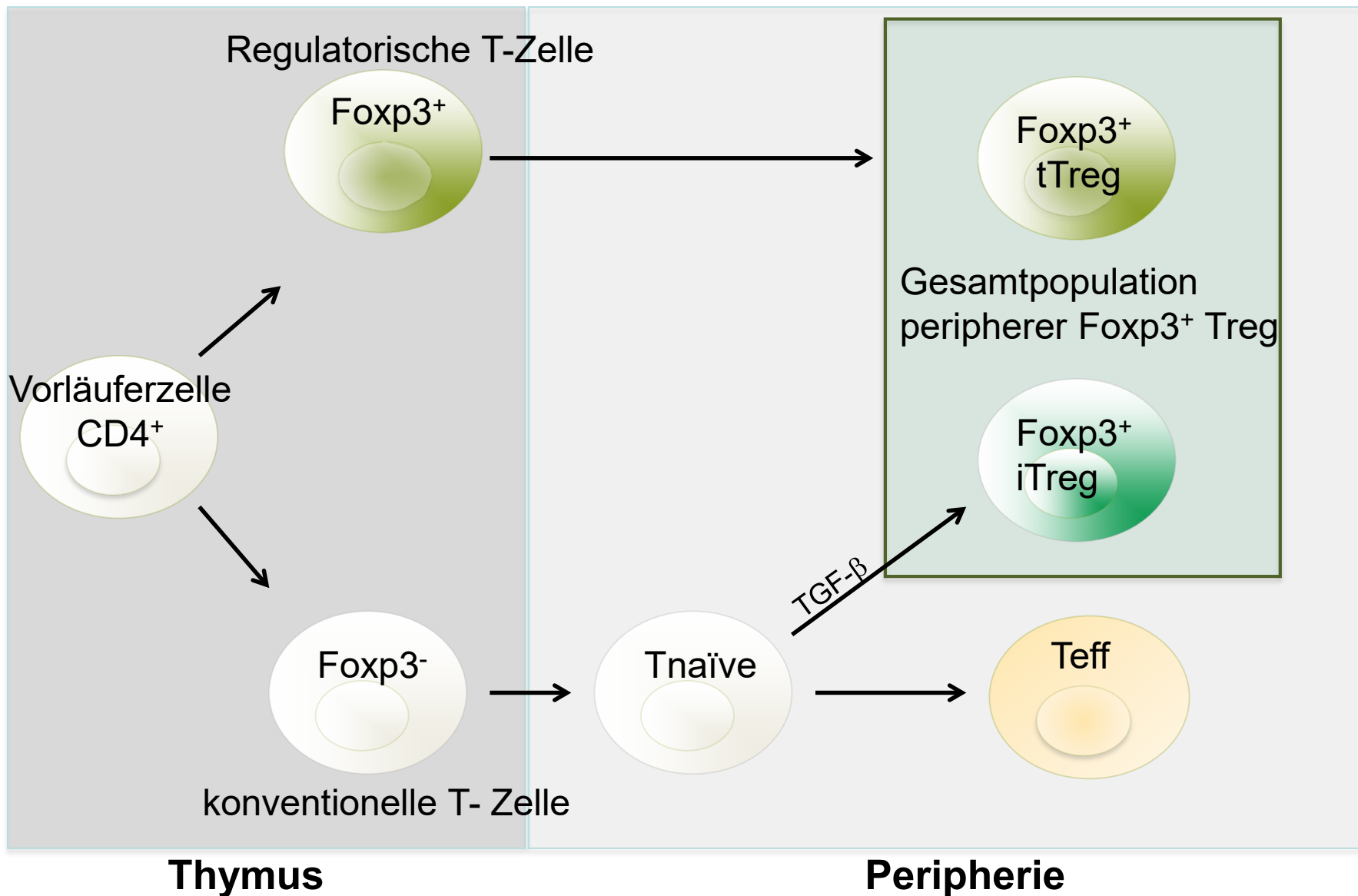
Hauptfunktionäre und Bindeglied zwischen
der zentralen und peripheren Toleranz

Bestimmung der Treg im Labor

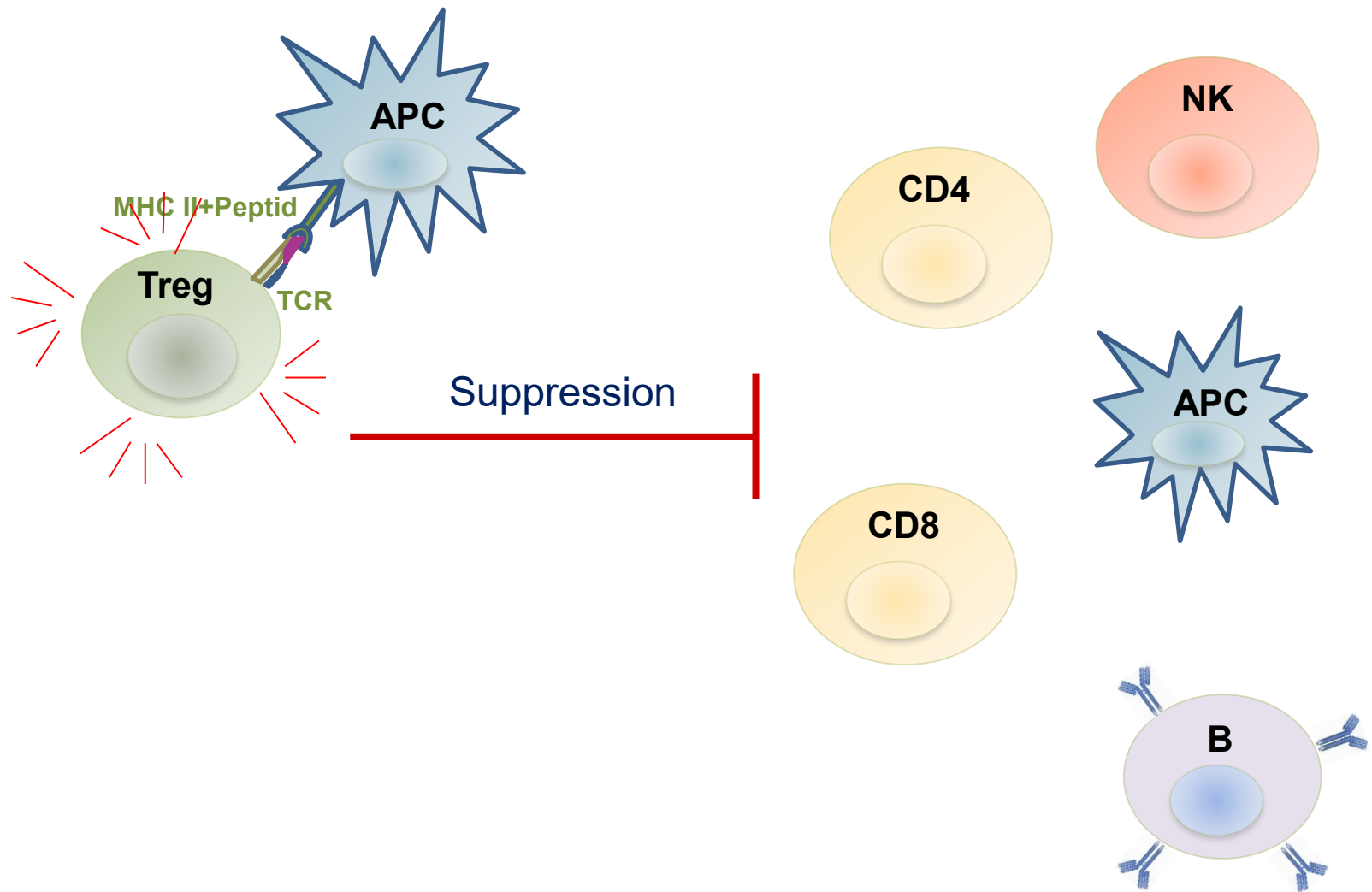
Quantitatives Immunprofil (EDTA-Blut)

		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	6000 / μ l	3900 - 10200		
Lymphozyten	1716 / μ l	1100 - 4500	29 %	20 - 44
Monozyten	564 / μ l	100 - 900	9 %	2 - 9,5
Granulozyten	3720 / μ l	1500 - 7700	62 %	42 - 77
Immunkompetenz				
T-Zellen	1316 / μ l	920 - 2580	77 %	61 - 84
B-Zellen	223 / μ l	120 - 630	13 %	7 - 21
NK-Zellen	175 / μ l	210 - 740	10 %	10 - 30
CD4+ T-Helferzellen	887 / μ l	550 - 1460	52 %	32 - 60
CD8+ T-Zellen	353 / μ l	280 - 930	21 %	23 - 40
naive T-Zellen (CD45RA+)	503 / μ l	300 - 1200	38 %	30 - 63
Thymusreserve (CD31+)			71 %	> 54
Immunaktivierung				
CD4/CD8-Ratio	2,51	1 - 3		
aktivierte T-Zellen (HLA-DR+)	201 / μ l	<345	12 %	< 17
präaktivierte T-Zellen (CD25+)	1127 / μ l	<460	66 %	< 36
memory T-Zellen (CD45RO+)	813 / μ l	300 - 1300	62 %	37 - 70
CD8+/CD28+ (zytotoxisch)	276 / μ l	238 - 448	78 %	49 - 73
aktivierte NK-Zellen	1 / μ l	<40	0,8 %	< 17
CD4+/CD8+ T-Zellen			1,2 %	< 5
Immuntoleranz				
Treg (CD4+/CD25++/CD127low)	61 / μ l	35 - 120	6,9 %	4 - 10
Anteil CD39+ Treg			41 %	< 54

Entwicklung Regulatorischer T-Zellen



Funktion

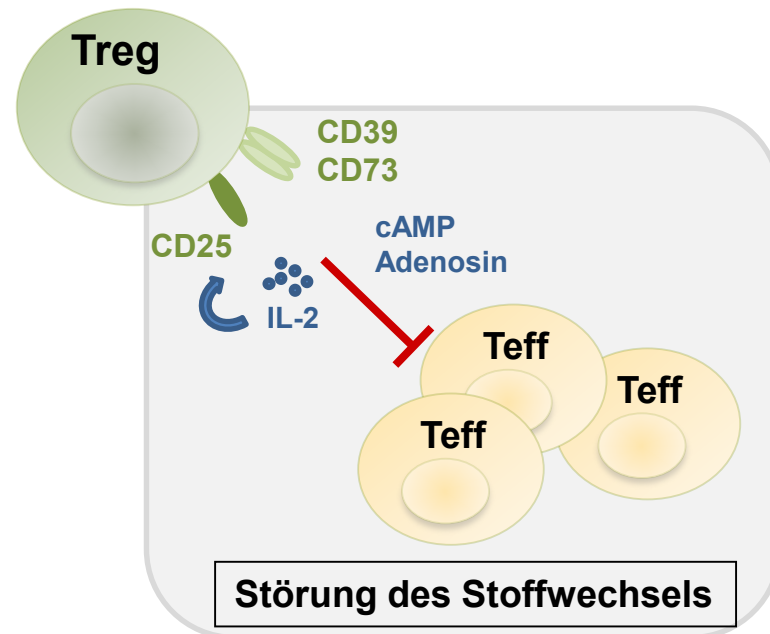


APC: Antigen-präsentierende Zelle

Funktionsmechanismen

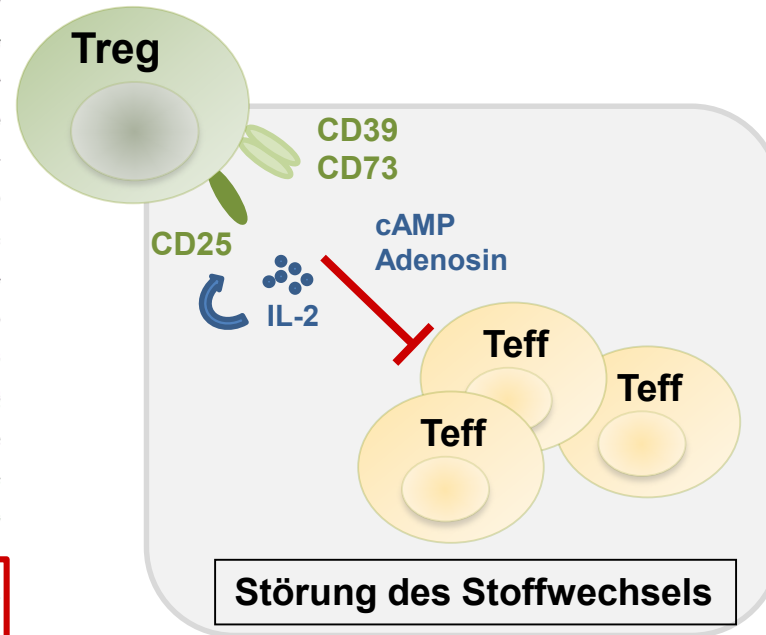
Eingriff in den Stoffwechsel

- > Entzug von IL-2 durch hoch-affinen IL-2 Rezeptor (CD25) auf Treg
- > Abbau von ATP zu cAMP und Adenosin -> Energie-Verfügung ↓
- > unzureichende Aktivierung von Effektor-T-Zellen



Funktionsmechanismen

		Normwerte
Leukozyten		
Lymphozyten	29 %	20 - 44
Monozyten	9 %	2 - 9,5
Granulozyten	62 %	42 - 77
Immunkompetenz		
T-Zellen	77 %	61 - 84
B-Zellen	13 %	7 - 21
NK-Zellen	10 %	10 - 30
CD4+ T-Helferzellen	52 %	32 - 60
CD8+ T-Zellen	21 %	23 - 40
naïve T-Zellen (CD45RA+)	38 %	30 - 63
Thymusreserve (CD31+)	71 %	> 54
Immunaktivierung		
CD4/CD8-Ratio		
aktivierte T-Zellen (HLA-DR+)	12 %	< 17
präaktivierte T-Zellen (CD25+)	66 %	< 36
memory T-Zellen (CD45RO+)	62 %	37 - 70
CD8+/CD28+ (zytotoxisch)	78 %	49 - 73
aktivierte NK-Zellen	0,8 %	< 17
CD4+/CD8+ T-Zellen	1,2 %	< 5
Immuntoleranz		
Treg (CD4+/CD25++/CD127low)	6,9 %	4 - 10
Anteil CD39+ Treg	41 %	< 54

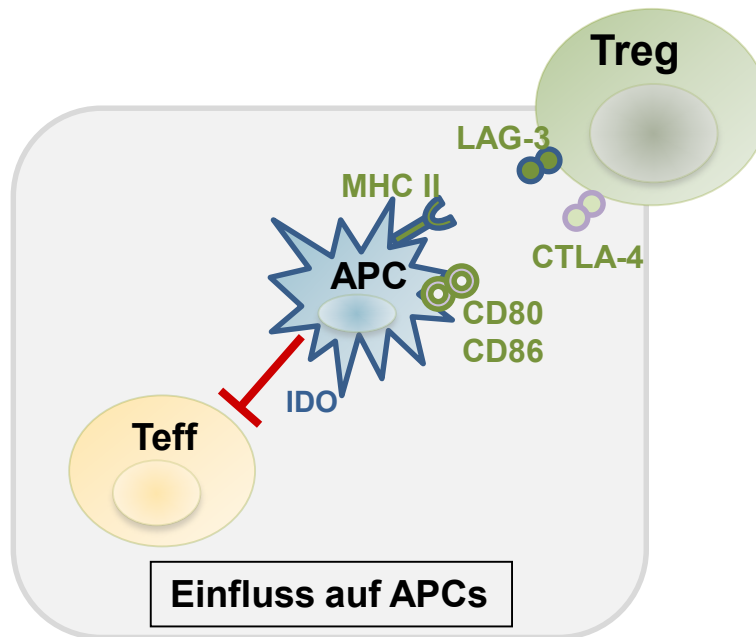


Funktionsmechanismen

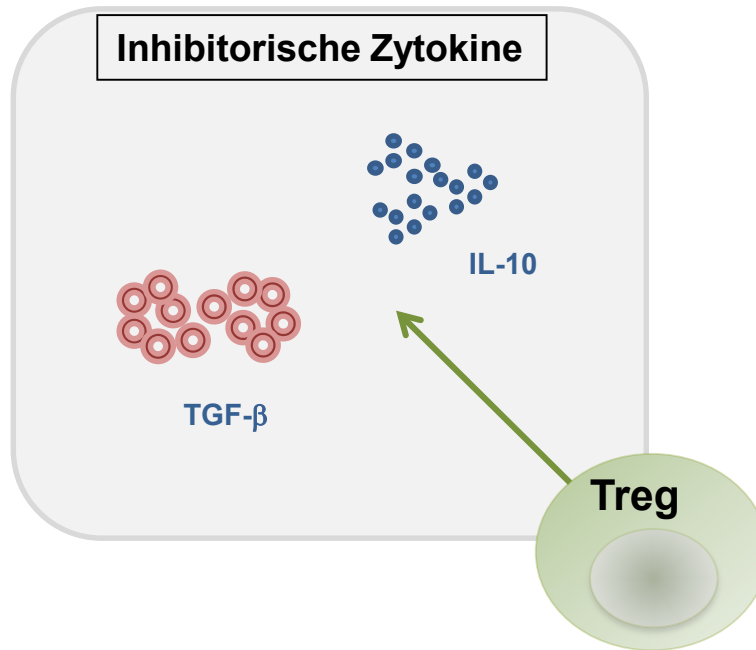
Über direkten Zell-Zell-Kontakt (Treg <-> APC)

-> Abschwächung von ko-stimulatorischen Signalen

-> unzureichende Aktivierung von Effektor-T-Zellen



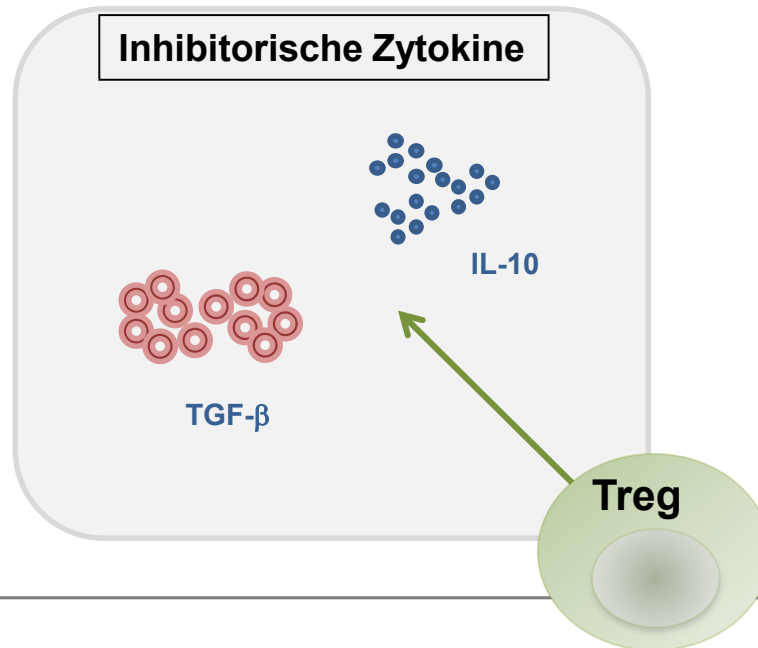
Funktionsmechanismen



Zell-Kontakt-unabhängig, über lösliche Botenstoffe

- > Hemmung der Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen (IFN- γ /TNF- α)
- > verminderte Expression von MHC II-Molekülen auf APCs und Inhibition von TLR-Signalwegen -> Aktivierung von APCs ↓

Funktionsmechanismen

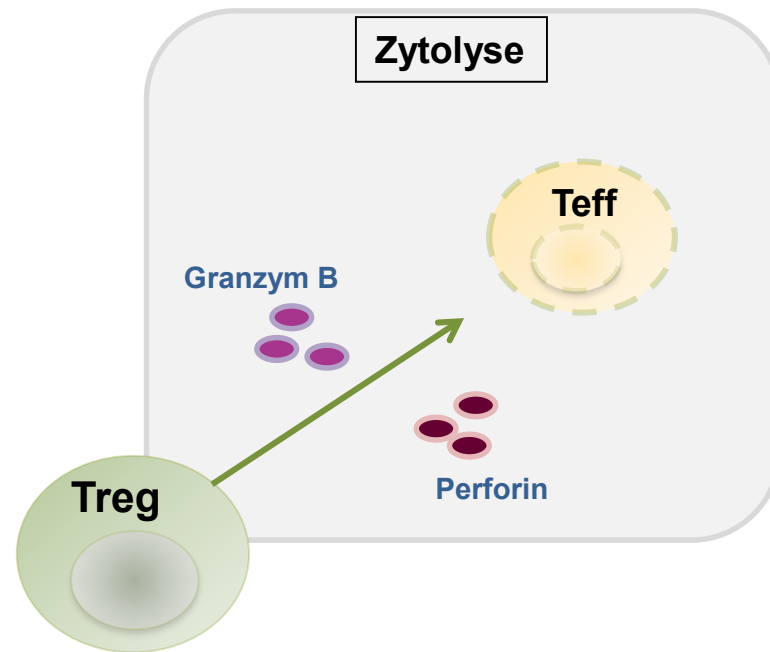


Interpretation SD:

Interleukin 1-β i.S.	(CLIA)	<2.0	pg/ml	< 5.0
Interleukin 6 i.S.	(CLIA)	11.8	pg/ml	< 3.8
Interleukin 8 i.S.	(CLIA)	11.4	pg/ml	< 15
Interleukin 10 i.S.	(CLIA)	13.6	pg/ml	< 9.1
TGF-beta i.S.	(ELISA)	76.5	ng/ml	18.3 - 41.6

Im Vergleich zum Vorbefund tendentiell verstärkt erhöhte antientzündliche Zytokine.

Funktionsmechanismen

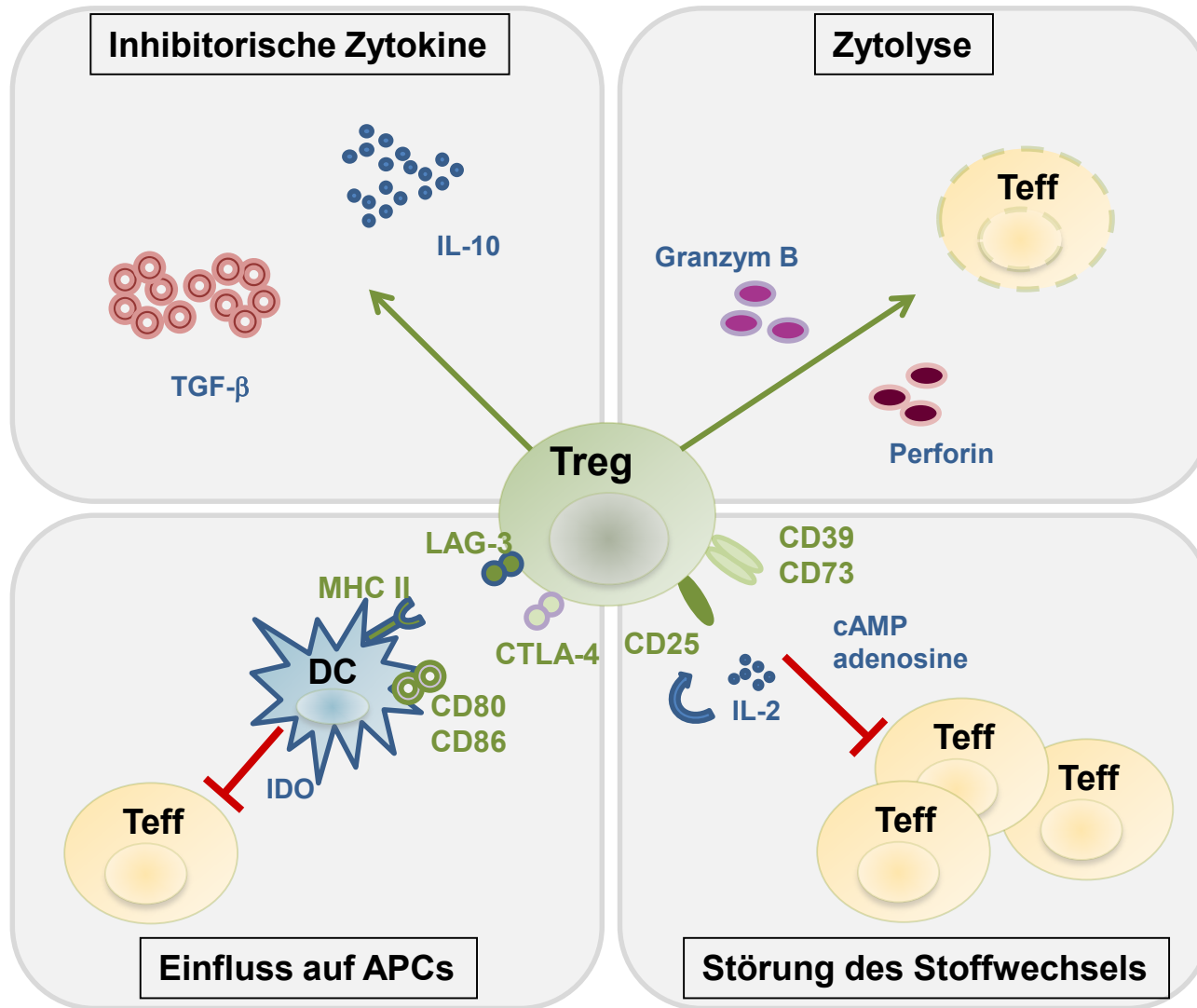


über lösliche Botenstoffe

-> nach Aktivierung Freisetzung von Gra B und Perforin

-> DNA-Abbau -> Apoptose (programmierter Zelltod)

Funktionsmechanismen



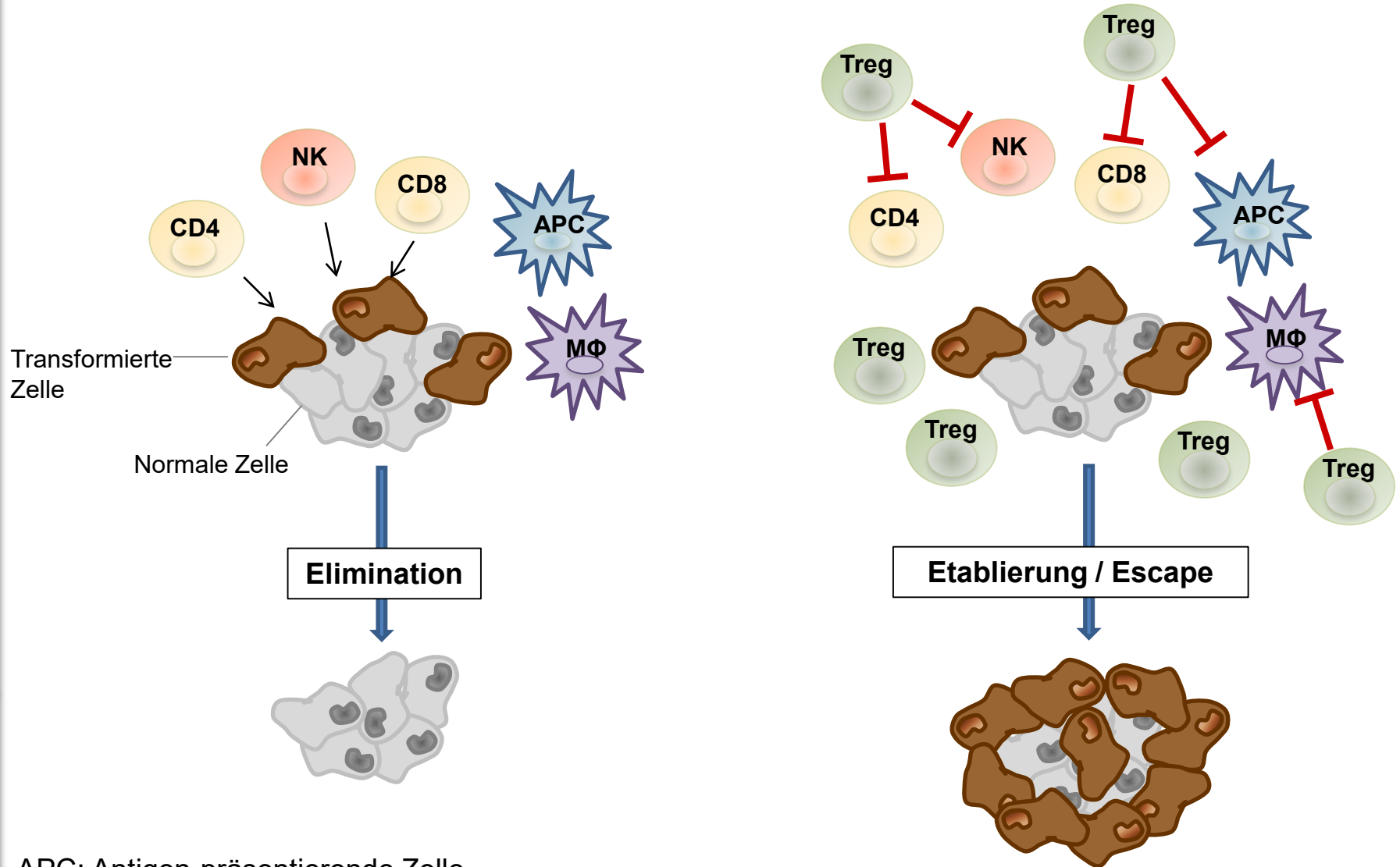
Funktionsmechanismen

- Weitere Funktionsmechanismen möglich
- Komplexes Zusammenspiel verschiedener Mechanismen
- unterschiedliche Milieus \Rightarrow unterschiedliche Mechanismen

Treg: Freund oder Feind?

Die Rolle der regulatorischen T-Zellen in verschiedenen
immunologischen Erkrankungen

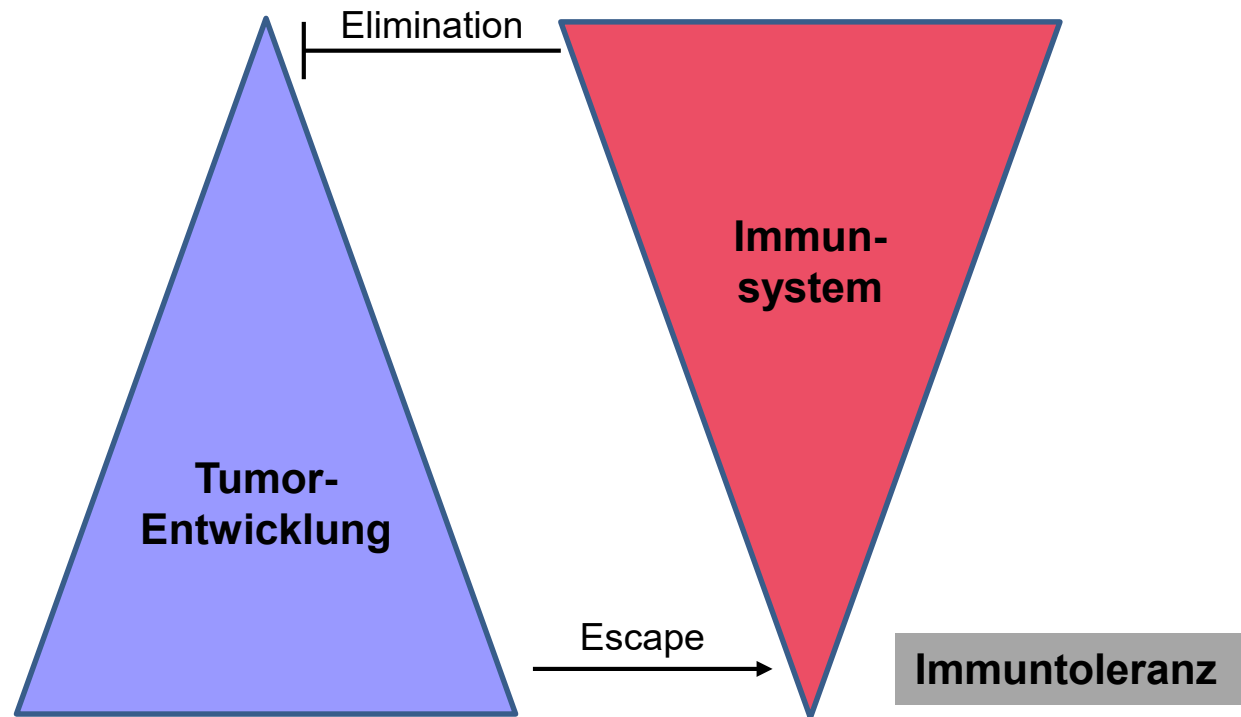
Treg in Tumorerkrankungen





APC: Antigen-präsentierende Zelle
MΦ: Makrophage

Treg in Tumorerkrankungen

Beziehung zwischen Tumor und Immunsystem



Treg in Tumorerkrankungen

- **Erhöhte Anzahl an Treg in Tumordinfiltraten und in Zirkulation**
Wolf et al. Clin Cancer Res 2003 / Sasada T et al. Cancer 2003 / Syed Khaja AS, Toor SM, El Salhat H, et al. Oncotarget 2017
- **Depletion mit α -CD25 AK (im Mausmodell) -> verhindert Tumor-Wachstum**
Onizuka, S., I. Tawara, J. Shimizu, et al. Cancer Res.1999
- **prognostische Signifikanz: Anzahl an Tumor-infiltrierenden Treg  -> Prognose **
Shang et al. Sci. Rep. 2015

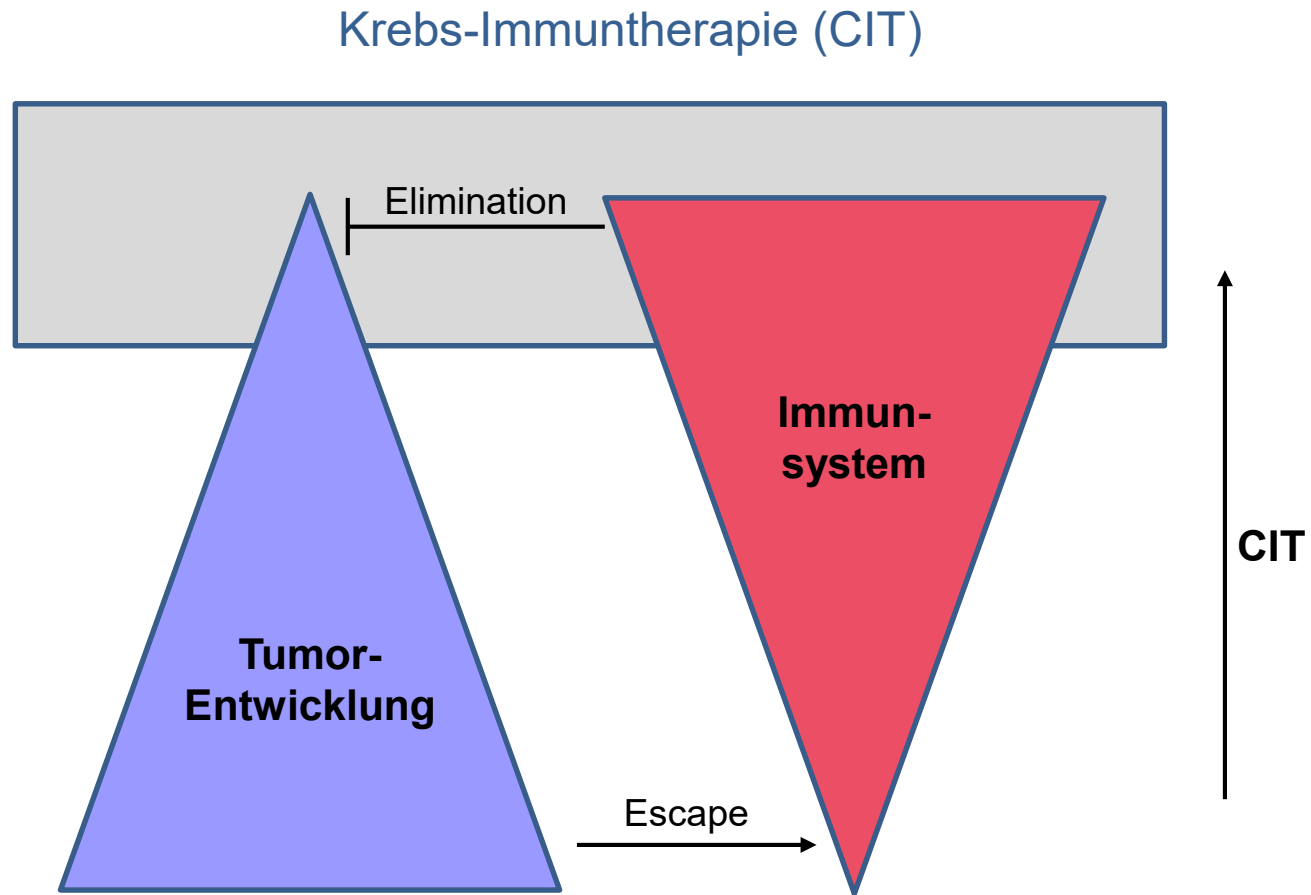


Hinweise, dass Funktion der Treg eine effektive anti-Tumor-Antwort verhindert und somit Tumor-Etablierung fördert!



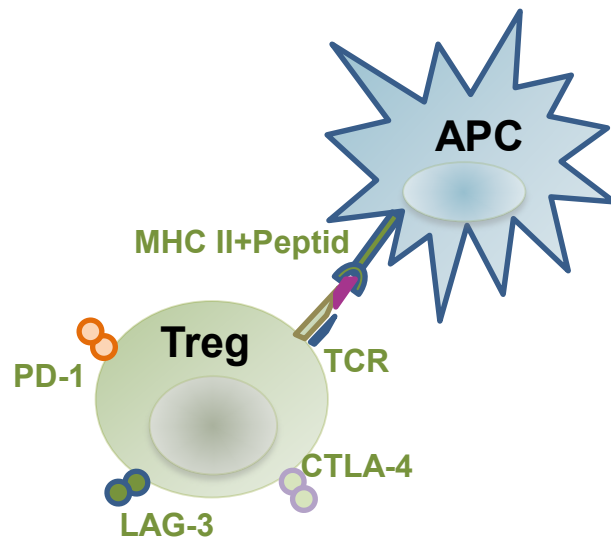
Treg als Target für Krebs-Immuntherapie (CIT: **cancer immunotherapie**)

Treg in Tumorerkrankungen



immunsuppressive Funktionen mindern / vermeiden

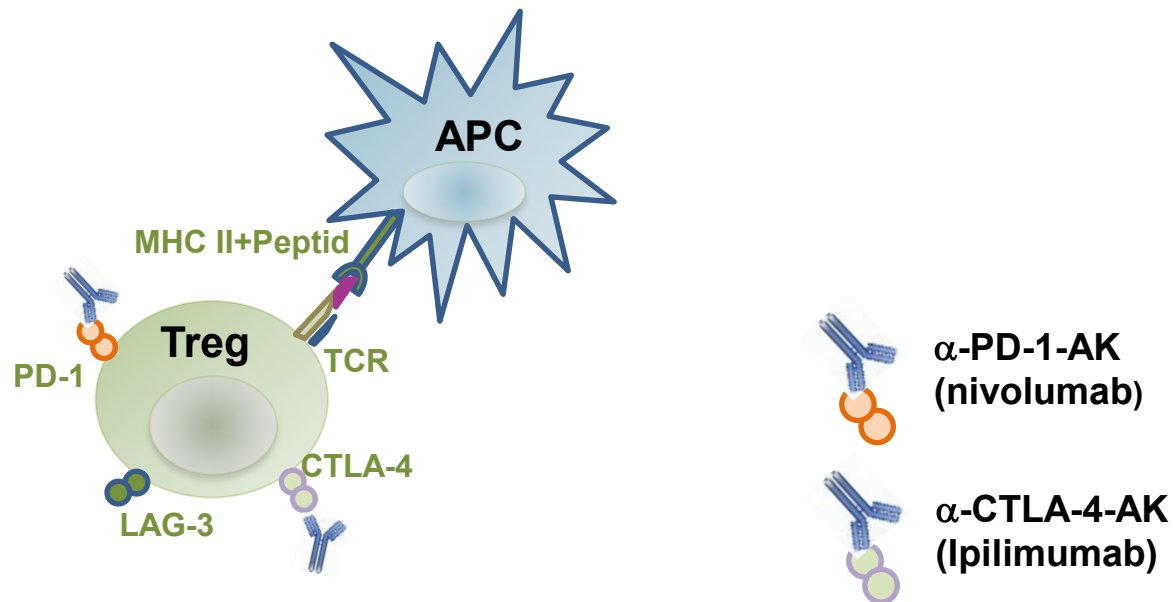
Treg in Tumorerkrankungen - Immuntherapie



 Inhibitorische Signale = Immun-Checkpoints

CIT: Blockade der Immun-Checkpoints

Treg in Tumorerkrankungen - Immuntherapie



- Bis zu 53 % der Patienten sprechen auf Therapie an (in Kombi-Therapie)
- Induktion der Proliferation von zyt.CD8+ T-Zellen; IFNg / IL-2 **↑** ; Treg **↓**
- Nebenwirkungen im Vergleich zu Chemotherapie verringert -> reversibel
- Ca. 20% Langzeit-Überlebensrate

Treg in Tumorerkrankungen – Freund oder Feind?

Funktion der Treg für Tumormunität



Bestimmung der Treg im Labor – im Kontext Tumor

Ausgangsbefund

		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	4700 / μ l	3900 - 10200		
Lymphozyten	799 / μ l	1100 - 4500	17 %	20 - 44
Monozyten	282 / μ l	100 - 900	6 %	2 - 9,5
Granulozyten	3619 / μ l	1500 - 7700	77 %	42 - 77
Immunkompetenz				
T-Zellen	591 / μ l	920 - 2580	74 %	61 - 84
B-Zellen	120 / μ l	120 - 630	15 %	7 - 21
NK-Zellen	128 / μ l	210 - 740	16 %	10 - 30
CD4+ T-Helferzellen	352 / μ l	550 - 1460	44 %	32 - 60
CD8+ T-Zellen	200 / μ l	280 - 930	25 %	23 - 40
naive T-Zellen (CD45RA+)	148 / μ l	300 - 1200	25 %	30 - 63
Thymusreserve (CD31+)			44 %	> 49
Immunaktivierung				
CD4/CD8-Ratio	1,76	1 - 3		
aktivierte T-Zellen (HLA-DR+)	80 / μ l	<345	10 %	< 17
präaktivierte T-Zellen (CD25+)	328 / μ l	<460	41 %	< 36
memory T-Zellen (CD45RO+)	443 / μ l	300 - 1300	75 %	37 - 70
CD8+/CD28+ (zytotoxisch)	140 / μ l	238 - 448	70 %	49 - 73
aktivierte NK-Zellen	4 / μ l	<40	3 %	< 17
CD4+/CD8+ T-Zellen			3,1 %	< 5
Immuntoleranz				
Treg (CD4+/CD25+ /CD127low)	31 / μ l	35 - 120	8,9 %	4 - 10
Anteil CD39+ Treg			59 %	< 54
CD8+/CD28- (regulatorisch)	60 / μ l	100 - 370	30 %	26 - 51
CD8/CD28-Ratio	2,33	1 - 2,8		

nach Immunstimulation

		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	4700 / μ l	3900 - 10200		
Lymphozyten	846 / μ l	1100 - 4500	18 %	20 - 44
Monozyten	282 / μ l	100 - 900	6 %	2 - 9,5
Granulozyten	3572 / μ l	1500 - 7700	76 %	42 - 77
Immunkompetenz				
T-Zellen	626 / μ l	920 - 2580	74 %	61 - 84
B-Zellen	127 / μ l	120 - 630	15 %	7 - 21
NK-Zellen	135 / μ l	210 - 740	16 %	10 - 30
CD4+ T-Helferzellen	398 / μ l	550 - 1460	47 %	32 - 60
CD8+ T-Zellen	228 / μ l	280 - 930	27 %	23 - 40
naive T-Zellen (CD45RA+)	169 / μ l	300 - 1200	27 %	30 - 63
Thymusreserve (CD31+)			46 %	> 49
Immunaktivierung				
CD4/CD8-Ratio	1,74	1 - 3		
aktivierte T-Zellen (HLA-DR+)	178 / μ l	<345	21 %	< 17
präaktivierte T-Zellen (CD25+)	465 / μ l	<460	55 %	< 36
memory T-Zellen (CD45RO+)	457 / μ l	300 - 1300	73 %	37 - 70
CD8+/CD28+ (zytotoxisch)	142 / μ l	238 - 448	62 %	49 - 73
aktivierte NK-Zellen	3 / μ l	<40	2 %	< 17
CD4+/CD8+ T-Zellen			2,4 %	< 5
Immuntoleranz				
Treg (CD4+/CD25+ /CD127low)	52 / μ l	35 - 120	13,2 %	4 - 10
Anteil CD39+ Treg			60 %	< 54
CD8+/CD28- (regulatorisch)	87 / μ l	100 - 370	38 %	26 - 51
CD8/CD28-Ratio	1,63	1 - 2,8		

Treg in Autoimmunerkrankungen

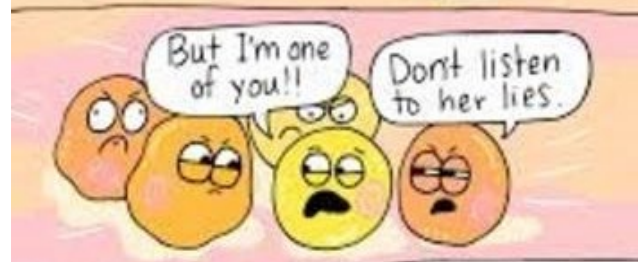
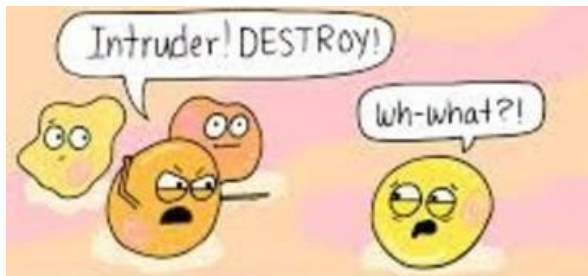
Autoimmunität:

- spezifische, adaptive Immunantwort gegen Selbstantigene

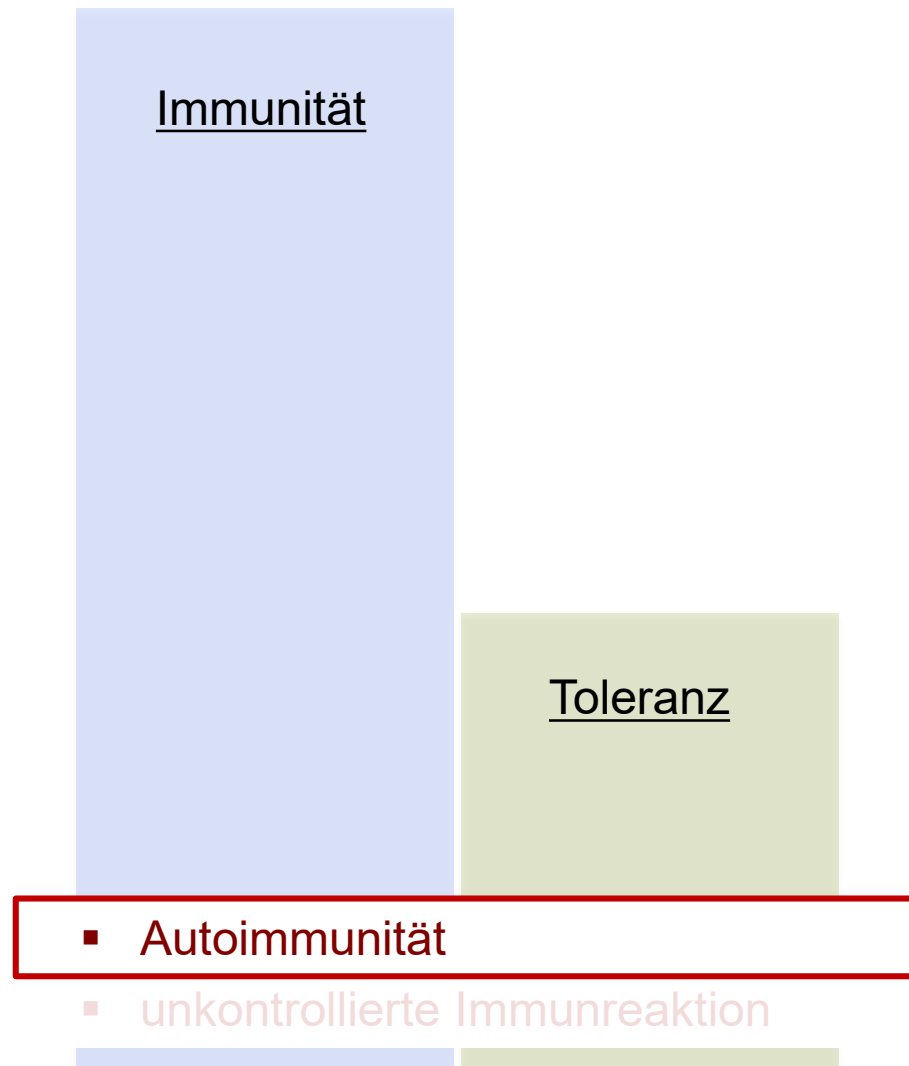


Autoimmunerkrankung:

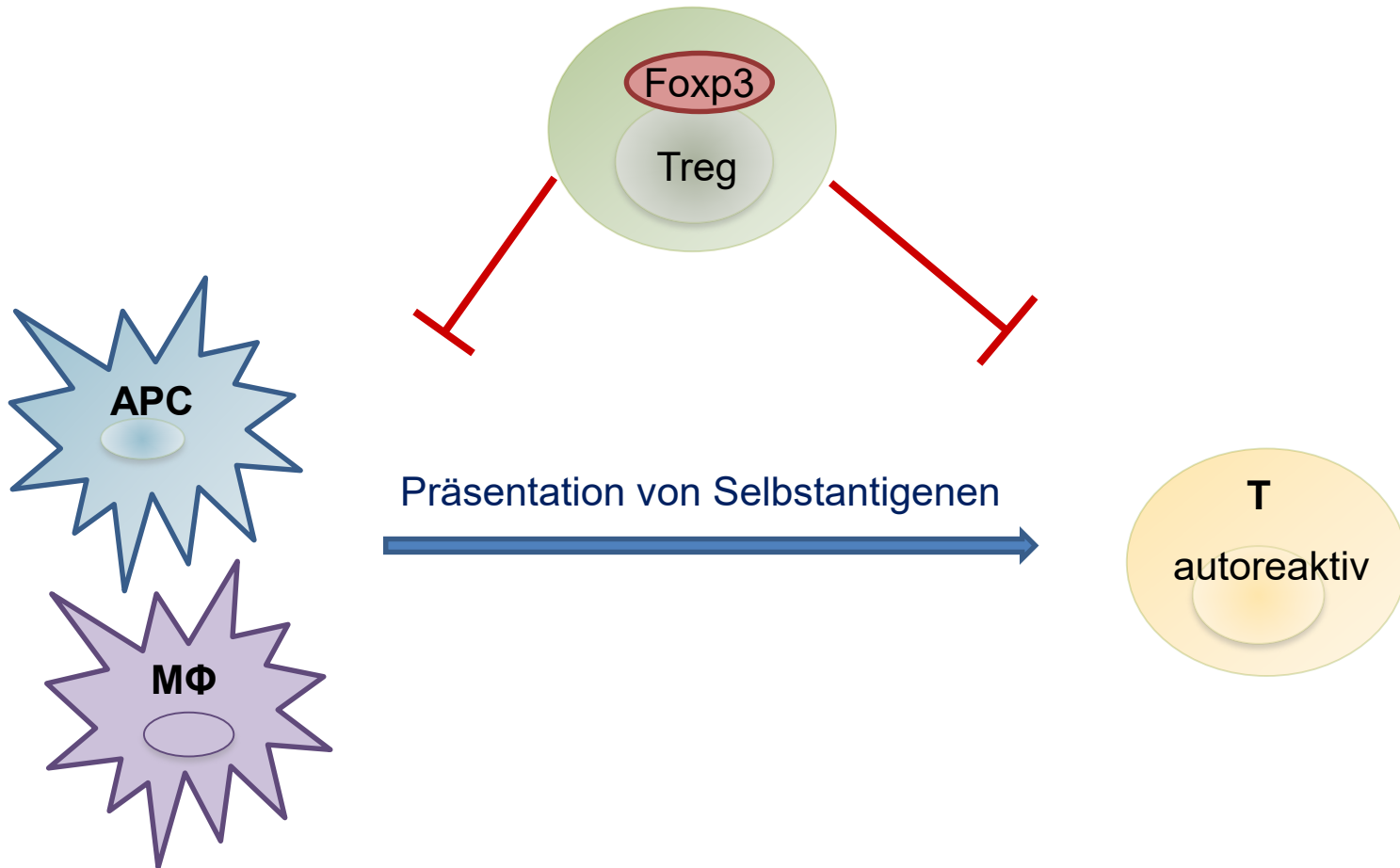
- Zerstörung oder Schädigung von körpereigenem Gewebe durch einen Autoantigen getriggerten Prozess



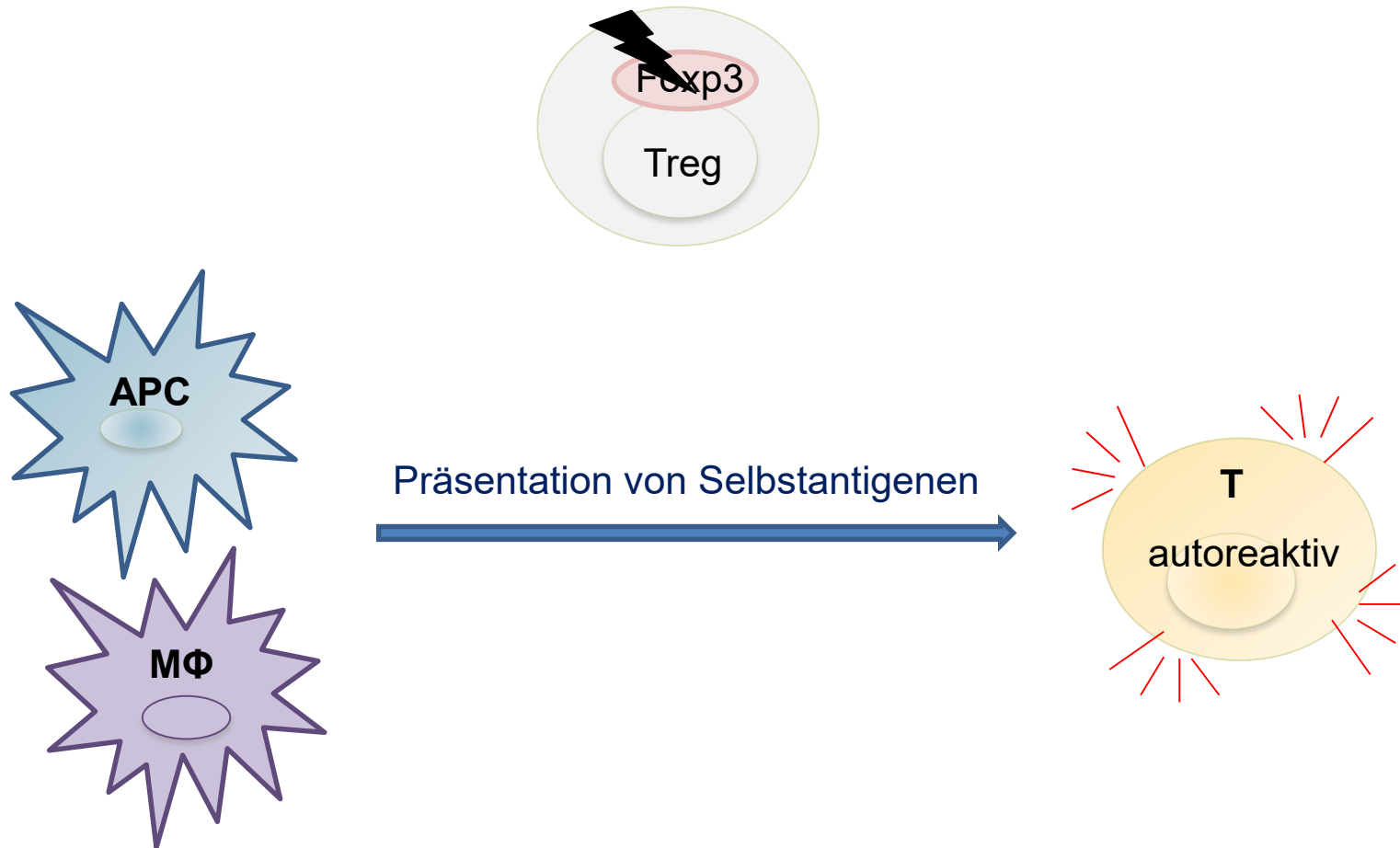
Autoimmunität – Versagen der Selbst-Toleranz



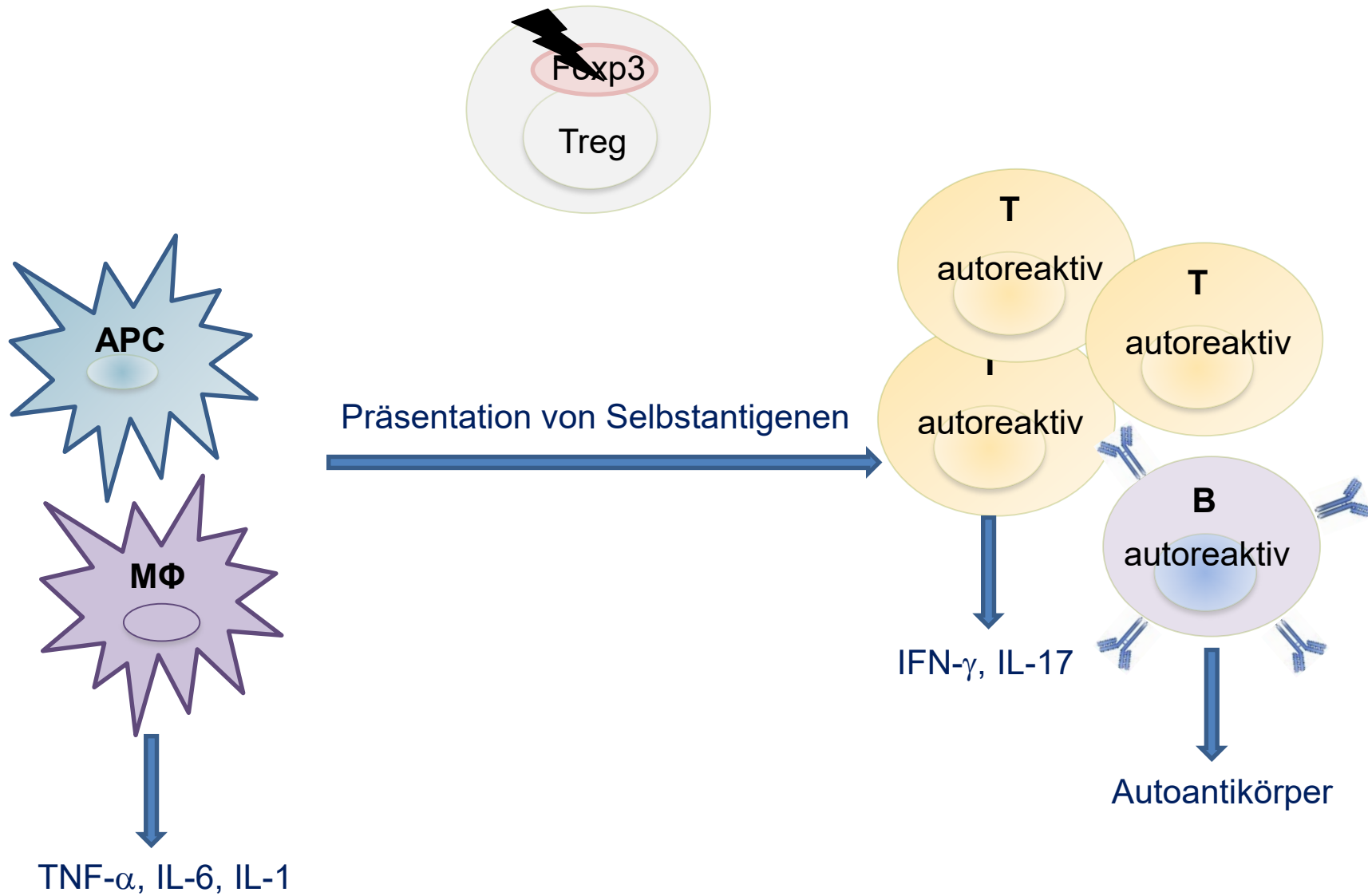
Treg in Autoimmunerkrankungen



Treg in Autoimmunerkrankungen



Treg in Autoimmunerkrankungen



Treg in Autoimmunerkrankungen

Rheumafaktor Klasse IgA, IgM i.S.

Rheumafaktor Klasse IgM i.S.	232	IU/ml	< 20.0
Rheumafaktor Klasse IgA i.S.	67.2	U/ml	< 20.0
CCP-AAk (Cycl.Citrull.Peptid) i.S. Ratio: 1.00 (schwach positiv)- 11.0 (stark positiv)	9.39	Ratio	< 1.00
MCV-AAk i.S. (ELISA)	>1000	U/ml	< 20.0

Interpretation:

Die nachgewiesene Antikörperkonstellation ist vereinbar mit dem klinischen Verdacht auf eine Rheumatoide Arthritis (RA)

CCP- und MCV-AAk gelten als frühe diagnostische Marker der Rheumatoiden Arthritis mit einer Spezifität von ca. 97%. Gleichzeitig gelten sie als prognostischer Marker bezüglich der Entwicklung einer erosiven RA. Zur Verlaufskontrolle empfehlen wir die Bestimmung der RF und MCV-AAk.

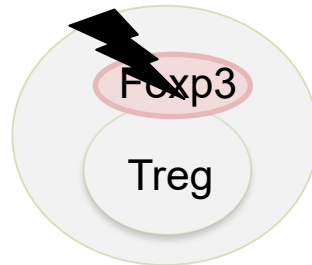
ANA (anti-nukleäre Ak) i.S. (IFT)	1:320		< 1:100
-----------------------------------	-------	--	---------

Fluoreszenzmuster:

Homogen/Granulär

TNF-alpha i.S. (CLIA)	41.1	pg/ml	< 8.1
-----------------------	------	-------	-------

Gründe für Fehlfunktion der Treg



- normale Anzahl an Treg in Zirkulation (verglichen mit gesunden Probanden)



abnorme Funktionen der Treg in nahezu allen bekannten Autoimmunerkrankungen entdeckt (SLE, MS, T1D, RA, psoriasis, IBD.....)

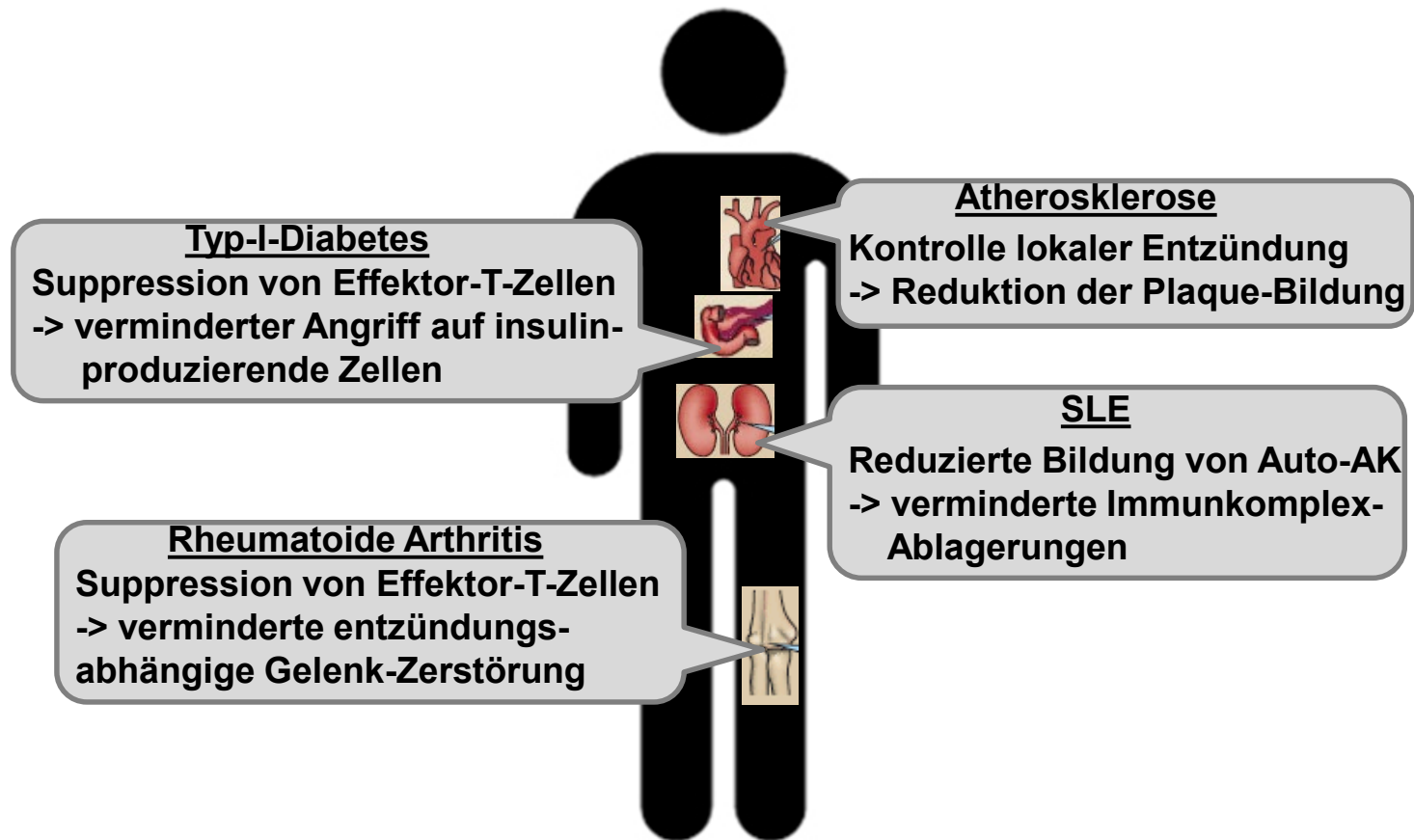
- Defekte in Entwicklung der Treg
- Defekte in Stabilität der Treg -> Verlust von FcγR3
- Defekte in den Suppressionsmechanismen der Treg
- Effektorzellen sind resistent gegenüber Treg Funktion

Auf Treg – basierende Therapieansätze

Ziel: Wiederherstellung der immunologischen (Selbst-)Toleranz

1) Therapie mit niedrig-dosiertem IL-2

↳ Expansion der Treg -> verminderte klinische Symptome



Auf Treg – basierende Therapieansätze

Ziel: Wiederherstellung der immunologischen (Selbst-)Toleranz

1) Therapie mit niedrig-dosiertem IL-2

↳ Expansion der Treg -> verminderte klinische Symptome

2) Therapie mit Autologer Stammzell-Transplantation (ASCT)

↳ Wiederherstellung der Treg und Reprogrammierung autoreaktiver T-Zellen

Auf Treg – basierende Therapieansätze

Ziel: Wiederherstellung der immunologischen (Selbst-)Toleranz

1) Therapie mit niedrig-dosiertem IL-2

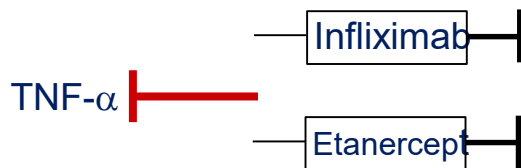
↳ Expansion der Treg -> verminderte klinische Symptome

2) Therapie mit Autologer Stammzell-Transplantation (ASCT)

↳ Wiederherstellung der Treg und Reprogrammierung autoreaktiver T-Zellen

3) Therapie durch Modulation der Treg

↳ Wiederherstellung / Verstärkung der Treg – Funktion



Auf Treg – basierende Therapieansätze

Ziel: Wiederherstellung der immunologischen (Selbst-)Toleranz

1) Therapie mit niedrig-dosiertem IL-2

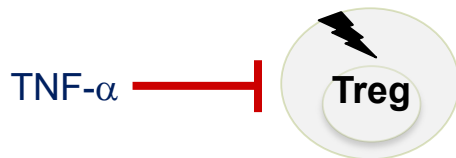
↳ Expansion der Treg -> verminderte klinische Symptome

2) Therapie mit Autologer Stammzell-Transplantation (ASCT)

↳ Wiederherstellung der Treg und Reprogrammierung autoreaktiver T-Zellen

3) Therapie durch Modulation der Treg

↳ Wiederherstellung / Verstärkung der Treg – Funktion



Auf Treg – basierende Therapieansätze

Ziel: Wiederherstellung der immunologischen (Selbst-)Toleranz

1) Therapie mit niedrig-dosiertem IL-2

↳ Expansion der Treg -> verminderte klinische Symptome

2) Therapie mit Autologer Stammzell-Transplantation (ASCT)

↳ Wiederherstellung der Treg und Reprogrammierung autoreaktiver T-Zellen

3) Therapie durch Modulation der Treg

↳ Wiederherstellung / Verstärkung der Treg – Funktion

TN~~F~~- α



Auf Treg – basierende Therapieansätze

Ziel: Wiederherstellung der immunologischen (Selbst-)Toleranz

1) Therapie mit niedrig-dosiertem IL-2

↳ Expansion der Treg -> verminderte klinische Symptome

2) Therapie mit Autologer Stammzell-Transplantation (ASCT)

↳ Wiederherstellung der Treg und Reprogrammierung autoreaktiver T-Zellen

3) Therapie durch Modulation der Treg

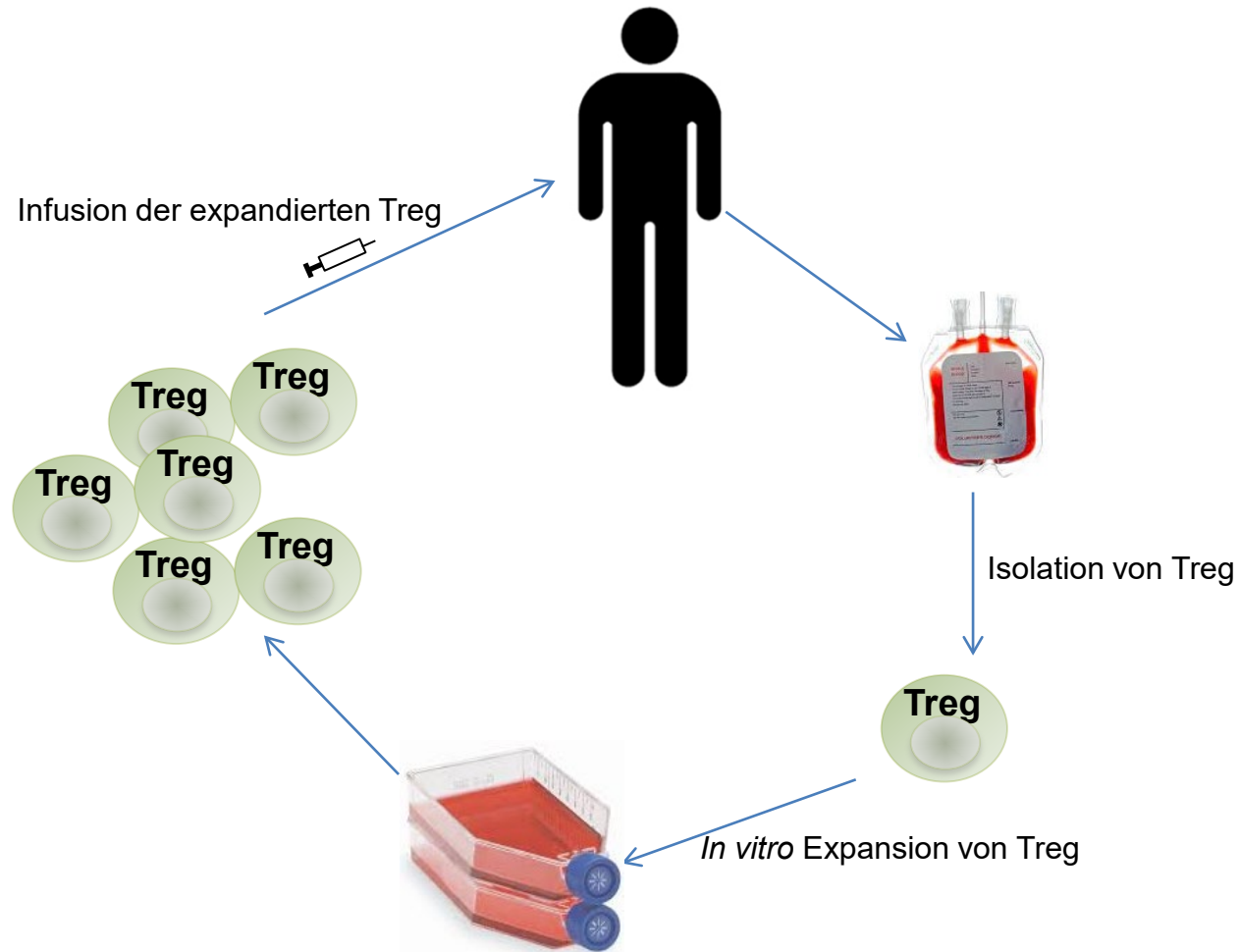
↳ Wiederherstellung / Verstärkung der Treg – Funktion

4) Therapie durch Infusion von expandierten Treg

↳ Wiederherstellung / Verstärkung der Treg – Funktion

Auf Treg – basierende Therapieansätze

Infusion von expandierten Treg



Pathogenese der Autoimmunerkrankung



Gene / Epigenetik

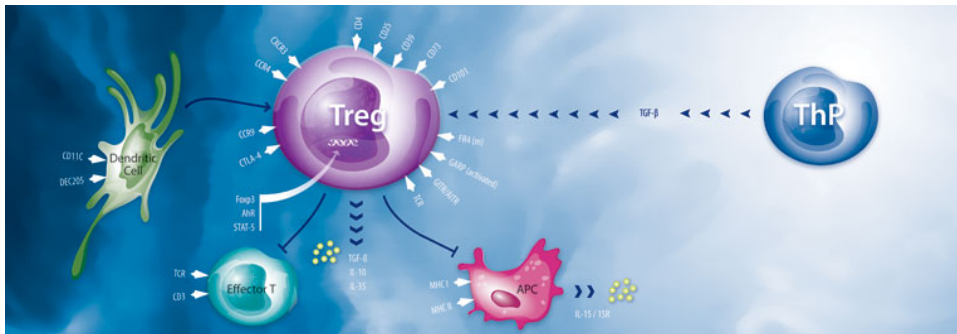


Autoimmunität

fehlgeschlagene
Regulation



Umwelt



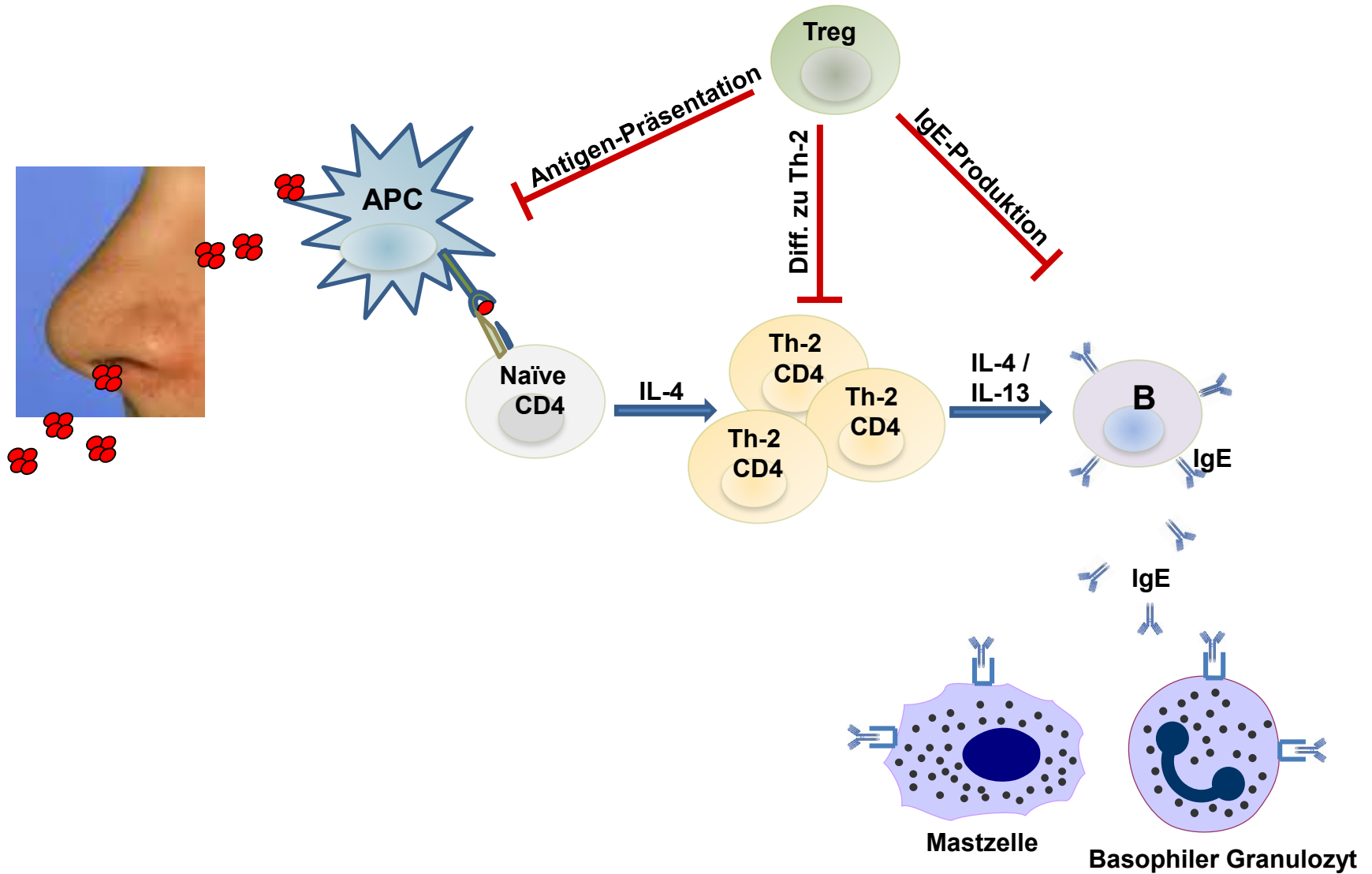
Treg in Autoimmunerkrankungen – Freund oder Feind?

Funktion der Treg für Autoimmunerkrankungen

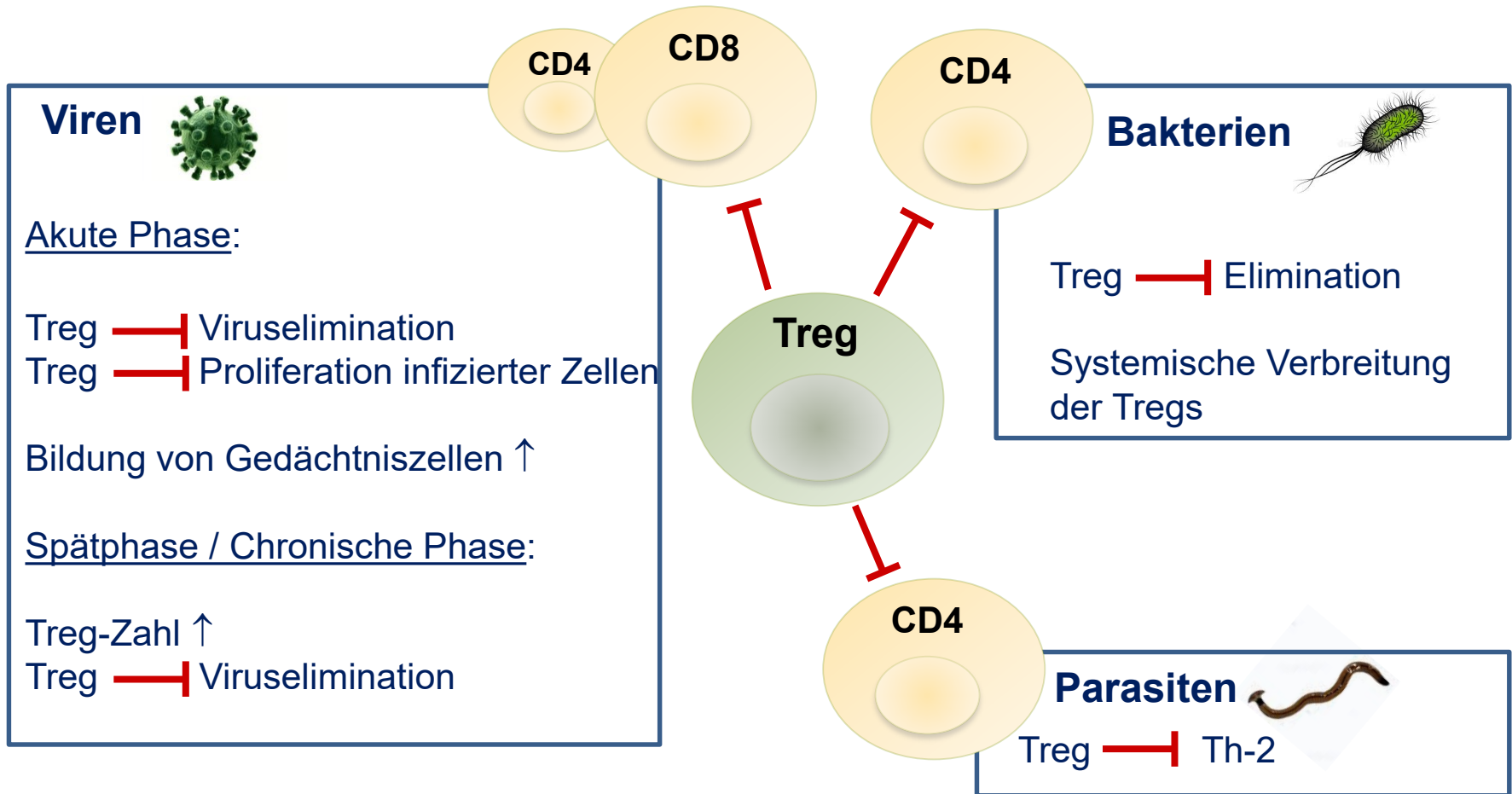


Treg und Allergie

Sensibilisierungsphase

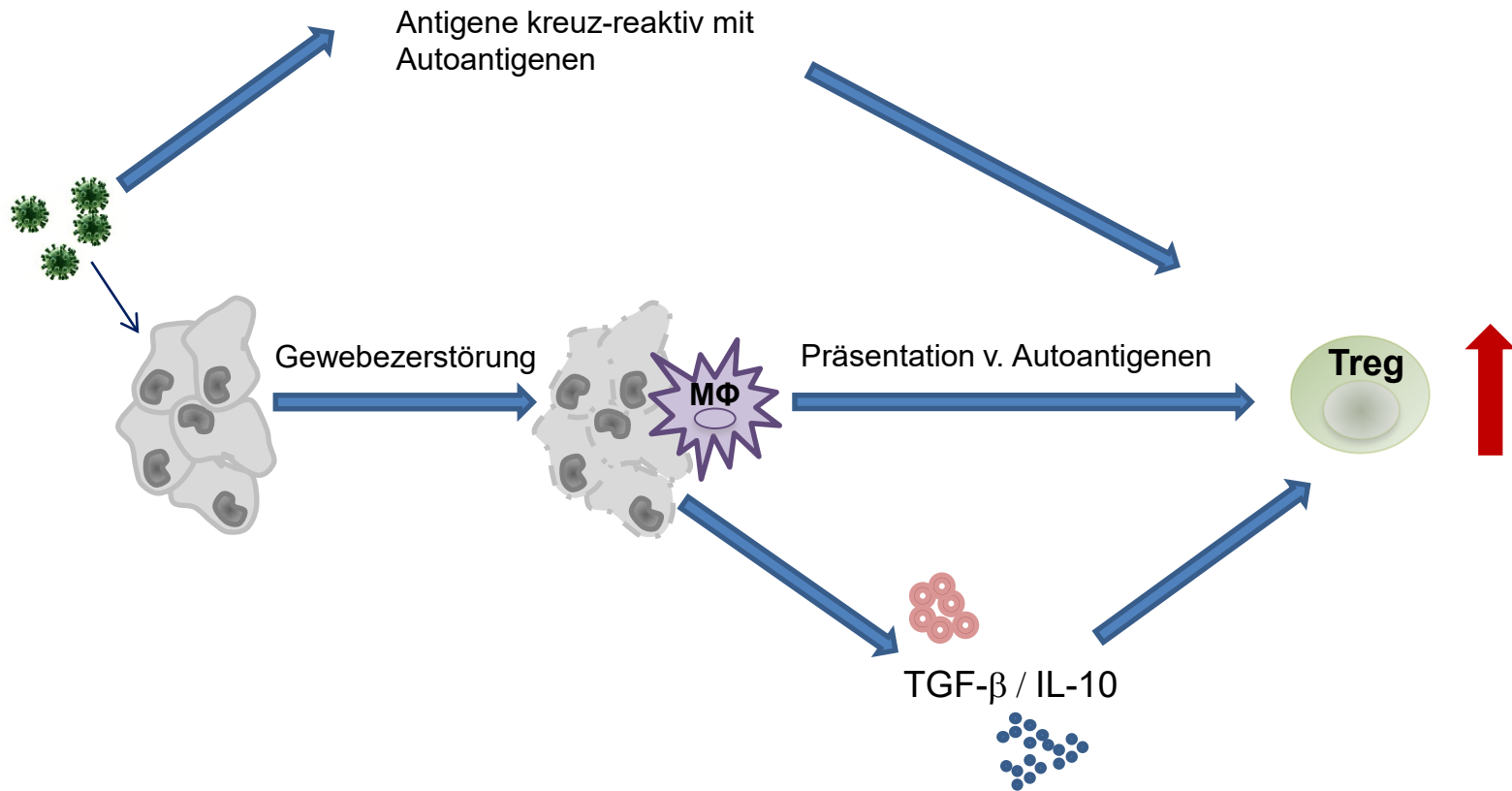


Treg in Infektionserkrankungen



Treg in Infektionserkrankungen

Viren / Bakterien fördern Entwicklung von Treg

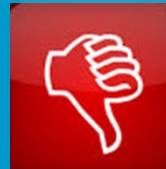


Treg in Infektionserkrankungen – Freund oder Feind?



- Eingrenzung der Entzündung
- Schutz vor Immunpathologie

- Suppression der protektiven Immunantwort
- Förderung der Pathogen-Persistenz





Medizinischer Kontext !!!

