

Projekttitle: Regulatorische T-Zellen als therapeutisches Target und Agens im Kontext hämatopoietischer Stammzelltransplantationen im Kindesalter

BetreuerIn: Dr. S. Landwehr-Kenzel, Dr. J.-S. Kühl, Prof. Dr. P. Reinke (Z2)

Kontakt: sybille.landwehr-kenzel@charite.de
Berlin-Brandenburg Centrum für Regenerative Therapien und
Kliniken für Pädiatrie m. S. Pneumologie/Immunologie und Onkologie/Hämatologie
Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow Klinikum

Hintergrund: Akute und chronische Graft-versus-Host-Reaktionen (GvHD, „Spender-gegen-Wirt-Reaktionen“) sind nach allogenen Stammzelltransplantationen weiterhin mit einer hohen Morbidität und Mortalität assoziiert. Vermittelt wird die GvHD durch Effektor-T-Zellen des Stammzellspenders, die das Gewebe des Empfängers als „fremd“ erkennen. Die Gegenspieler dieser Effektor-T-Zellen sind sogenannte „regulatorische T-Zellen“ (Tregs) die Immunhomöostase und damit auch Toleranz vermitteln. Im Kontext solider und hämatopoetischer Transplantationen spielen Tregs eine entscheidende Rolle in der Induktion und Aufrechterhaltung einer Toleranz gegenüber Alloantigenen bzw. in der Steuerung der GvHD oder Transplantatabstoßung.

Tregs zeigen eine besondere Sensibilität gegenüber Interleukin-2 (IL-2), das diese Zellen bereits in sehr niedriger Konzentration zur Proliferation anregt. Daher ist eine *in vivo* Induktion von Tregs durch therapeutische IL-2-Gaben ein vielversprechender Therapieansatz. Zusätzlich stehen Tregs auch direkt für klinische Anwendungen als spezifisches Zelltherapeutikum zur Verfügung, da es technisch nun möglich ist, diese Zellen in standardisierten GMP-Verfahren zu isolieren und *ex vivo* zu expandieren. Erste klinische und im Ergebnis vielversprechende Proof-of-Principle-Studien zur Prävention und Behandlung der akuten und chronischen GvHD mittels adoptivem Transfer von *ex vivo* expandierten Tregs bei Erwachsenen sind bereits publiziert.

Auf Grund besonderer Konstellationen in der kindlichen Immunologie (z.B. noch erhaltene Thymusfunktion) stellen Kinder ein hoch interessantes Patientenkollektiv dar. Im Rahmen dieses Projektes werden wir Tregs therapeutisch induzieren (*in vivo* und *ex vivo*) und immunologische Regulationsmechanismen im Detail untersuchen.

Die zu bearbeitenden Fragestellungen adressieren Reifung, Funktion und Rekonstitution von regulatorischen T-Zellen nach Stammzelltransplantation im Kindesalter und deren Wirkung auf andere Zellen des angeborenen und adaptiven Immunsystems.

Ziel dieses Projektes ist

- ein umfassendes Immunmonitoring von Patienten unter Treg-spezifischer Therapie (adoptiver Treg-Transfer oder IL-2-Therapie) durchzuführen,

- mittels einheitlicher klinischer und zellbasierter Parameter die Effektivität einer Treg-spezifischen Therapie mit der Effektivität anderer Therapieoptionen (beispielsweise extrakorporale Photopherese oder intensive immunsuppressive Therapie) zu vergleichen,
- eine weiterführende phänotypische und funktionelle Charakterisierung nativ gewonnener und ex vivo expandierter regulatorischer T-Zellen vorzunehmen,
- durch gewonnene Erkenntnisse eine Verbesserung der Herstellungsprozesse des Zellproduktes zu erreichen und damit eine Verbesserung der Therapieoptionen zu erzielen.

Diese Fragestellungen werden bearbeitet durch die Untersuchung von Patientenmaterial und Probandenmaterial gesunder Spender insbesondere mittels

- 10-Farben-Durchflusszytometrie für die Messung der Expression von Rezeptor- und Signalmolekülen, Transkriptionsfaktoren und Zytokinen auf Einzelzellebene
- Next Generation Sequencing zum Nachweis einzelner Zellklone und deren Frequenz
- Live Cell Imaging für die Analyse von Zell-Zell-Interaktionen und den Nachweis der Expression von Rezeptor- und Signalmolekülen, intrazellulären Markerproteinen und Zytokinen auf Einzelzellebene

Alle diese Methoden sind in unserem Labor bzw. über unsere Core Facilities etabliert und können nach Bedarf weiter adaptiert werden.