

Maren Bechberger

Dr. sc. hum.

## **Das Immunsystem – Regelgröße zur Beeinflussung der Zusammensetzung des Mikrobioms?**

Fach/Einrichtung: Medizinische Mikrobiologie / Zentrum für Infektiologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Klaus Heeg

Die Erforschung des Mikrobioms erhält in der heutigen Zeit durch die immer stärkere Evidenz seiner Bedeutung in Gesundheit und Krankheit einen hohen Stellenwert. Die gegenseitige Beeinflussung zwischen der Mikrobiota und dem Wirt, besonders die Rolle des Immunsystems, bedarf hierbei einer genauen Betrachtung. Interleukin-1 $\beta$  ist ein wichtiges proinflammatorisches Zytokin, B-Zellen und T-Zellen sind wichtige Komponenten des adaptiven Immunsystems. All diese Mitspieler sind bei der Aufrechterhaltung der Homöostase des Darms mitbeteiligt. Diese Arbeit gibt neue Einblicke in die Rolle von Interleukin-1 $\beta$ , B-Zellen und T-Zellen bei der Beeinflussung der Zusammensetzung des Mikrobioms des Darms und in die Faktoren, die mit diesen Änderungen assoziiert sind.

Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass sich durch einen knockout von Interleukin-1 $\beta$  in Mäusen kein Einfluss auf die hoch prävalenten Vertreter der Darm-Mikrobiota ergibt. Jedoch zeigt sich ein vermehrtes Vorkommen der Familie der Verrucomicrobiaceae. Zu den Verrucomicrobiaceae zählt das gram-negative, mukusliebende Bakterium *Akkermansia muciniphila*, welches bei einer Interleukin-1 $\beta$  Defizienz bei Mäusen stark erhöht vorkommt. Sowohl im Next Generation Sequencing als auch in der quantitativen Real Time- Polymerase Chain Reaction sind diese Ergebnisse aus dem Colon-Fäzes für das Bakterium *Akkermansia muciniphila* auch über einen langen Zeitraum konsistent. Das antimikrobielle Peptid Angiogenin 4, dessen Expression bei Fehlen von Interleukin-1 $\beta$  stark herabgesetzt ist, ist ein möglicher Kandidat, der für die Quantität des Vorkommens von *Akkermansia muciniphila* verantwortlich ist. Es zeigt eine inverse Korrelation zum Auftreten des Bakteriums und besitzt eine statistisch hoch signifikante wachstumshemmende Wirkung auf *Akkermansia muciniphila*. Ergebnisse dieser Arbeit konnten zeigen, dass durch die Änderungen in der Expression, besonders der des antimikrobiellen Peptids Angiogenin 4, und durch die verstärkte Besiedlung mit *Akkermansia muciniphila* eine vermehrte Penetration des Bakteriums in den Mukus ermöglicht wird. Dieser Ortswechsel kann zu einem erhöhten Kontakt mit dem systemischen Immunsystem führen, wodurch eine stärkere Immunglobulin G Produktion gegen *Akkermansia muciniphila* beobachtet wurde.

Das Bakterium *Akkermansia muciniphila* gilt als Indikator für ein gesundes Mikrobiom in einem gesunden Wirt. *Akkermansia muciniphila* kann positive Effekte auf metabolische Prozesse im Körper ausüben. So beeinflusst es den Fett- und Glucosestoffwechsel und kann bei adipösen Individuen zu einem Gewichtsverlust führen. *Akkermansia muciniphila* ist in Erkrankungen wie Diabetes mellitus, Adipositas oder dem metabolischen Syndrom, sowie in vielen chronisch entzündlichen Erkrankungen, nur in geringem Maße in der Mikrobiota des Darms anzutreffen. Bei all diesen Erkrankungen zeigt sich eine basale Inflammation, die mit erhöhten Interleukin-1 $\beta$  Leveln einhergeht. Die Ergebnisse dieser Arbeit legen nahe, dass die verminderte Besiedlung mit dem gesundheitsfördernden Bakterium *Akkermansia muciniphila* durch das verstärkte Vorhandensein von Interleukin-1 $\beta$  hervorgerufen wird. Das Zytokin führt hierbei zur Sekretion von antimikrobiellen Peptiden wie Angiogenin 4, die in den Mukus freigesetzt und durch diesen stabilisiert werden. Dies wiederum führt zu einem erschwerten

Eindringen des mukuskolonisierenden Bakteriums. Zusammenfassend zeigt diese Arbeit das erste Mal eine direkte Korrelation zwischen Interleukin-1 $\beta$  und der quantitativen Zusammensetzung der Mikrobiota im Darm, die die Beobachtungen bei vielen Erkrankungen mit basaler Inflammation und erhöhten Interleukin-1 $\beta$  Leveln erklären kann. Durch die physiologische Bedeutung von *Akkermansia muciniphila* auf die intestinale Homöostase und die metabolische Gesundheit des Wirts können diese Ergebnisse Hinweise in Richtung einer therapeutischen Anwendung des Bakteriums als Probiotikum nicht nur bei metabolischen, sondern auch bei chronisch inflammatorischen Erkrankungen geben.

Die Therapie von C57BL/6N Mäusen mit 375 mg/m<sup>2</sup> einmal wöchentlich verabreichtem intravenösem Rituximab versus Placebo sowie eine sechswöchige Therapie von Patienten mit Rituximab zur Erforschung des B-Zell-Einflusses führen zu keinem Unterschied in der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Diversität. Bei Betrachtung der einzelnen Sequenzen zeigt sich eine statistisch signifikante Erhöhung von Butyrat-bildenden Bakterien wie *Roseburia* und anderen Lachnospiraceae sowie *Faecalibacterium prausnitzii*. Butyrat zählt zu den kurzkettigen Fettsäuren, die im Darm durch Fermentationsprozesse anaerober Bakterien gebildet werden. Butyrat besitzt eine antiinflammatorische Wirkung und zeigt eine inverse Korrelation zu Erkrankungen, die mit inflammatorischen Prozessen einhergehen. Denkbar ist, dass Rituximab über die Erhöhung der Kolonisation des Darms mit Butyrat-bildenden Bakterien eine Erhöhung des Butyrat-Spiegels erreicht, was über die Beeinflussung sowohl des intestinalen als auch des systemischen Immunsystems eine positive Modulation von Autoimmunerkrankungen oder anderen mit Inflammation einhergehenden Erkrankungen erwirken kann. Somit lässt sich dieser Wirkmechanismus als zusätzlicher therapeutischer Effekt einer Rituximab Gabe beschreiben, der nicht zu einer Augmentation der B-Zell-Antwort, sondern zu einer Modulation anderer an der Immunantwort beteiligten Mitspieler wie T-Zellen, Zytokinen und Makrophagen führt. Dies könnte in der Zukunft als eine neue Therapiemöglichkeit durch Gabe von Butyrat-Bildnern als Probiotikum oder dem Fermentationsprodukt Butyrat als Ergänzung für ein besseres Outcome von Patienten mit inflammatorisch getriggerten Erkrankungen dienen.

Die Therapie von C57BL/6N Mäusen mit 35 mg/kg täglich intraperitoneal verabreichtem Ciclosporin versus Placebo zur Erforschung des T-Zell-Einflusses zeigt nach drei Wochen zwar keinen Unterschied in der  $\alpha$ -Diversität, jedoch in der  $\beta$ -Diversität eine statistisch signifikante Änderung in der Struktur der Mikrobiota. Als statistisch signifikant in den mit Ciclosporin behandelten Mäusen erhöht vorkommendes Bakterium erscheint *Turicibacter sanguinis*. Dieses Bakterium wird in der Literatur sehr kontrovers diskutiert, scheint aber bei erhöhtem Vorkommen an Gallensäuren im Darm einen Wachstumsvorteil zu besitzen und wird als wichtiger Einflussfaktor auf den Lipid- und Steroidstoffwechsel des Wirts gehandelt. Auch eine vermehrte Fettbildung scheint mit diesem Bakterium einherzugehen. *Turicibacter sanguinis* könnte durch eine durch Ciclosporin verursachte Akkumulation von Gallensäuren einen Überlebensvorteil erhalten und möglicherweise an der Entwicklung oder Ausprägung von mit Ciclosporin assoziierten Nebenwirkungen wie der Entwicklung von Adipositas, erhöhten Fettwerten oder Atherosklerose beteiligt sein. Der Zusammenhang kann zum jetzigen Zeitpunkt jedoch nur gemutmaßt und sollte durch weitere Studien näher erforscht werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass auch eine Beeinflussung des adaptiven Immunsystems einen Einfluss auf die Mikrobiota des Darms besitzen kann, der sowohl positive als auch möglicherweise negative Effekte mit sich bringen kann.