

Zusammenfassung

Herzerkrankungen sind nach wie vor die häufigste Todesursache weltweit. Bis dato gibt es nur palliative Ansätze, die zur Behandlung von Symptomen, aber nicht zur Heilung von pathologischen Herzerkrankungen beitragen. Die linksventrikuläre Hypertrophie (LVH) ist eine adaptive Reaktion auf chronische Überbelastung des Myokards, die von verschiedenen molekularen und zellulären Veränderungen begleitet wird und somit die Funktion der linken Herzkammer beeinträchtigt. Pathologisch induzierte LVH erhöht das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen, wie Herzinsuffizienz oder Schlaganfall, sowie die Wahrscheinlichkeit für plötzlichen Herztod. Inflammation ist ein charakteristisches Merkmal einer Vielzahl von Herzerkrankungen und geht mit Zellinvasion einher, bei der u.a. auch Makrophagen rekrutiert werden. Diese lassen sich hinsichtlich ihrer Plastizität in inflammatorische M1 und anti-inflammatorische M2 Makrophagen unterscheiden. Ferner wird der anti-inflammatorische Phänotyp in die drei Subtypen M2a, M2b und M2c unterteilt. M1 als auch die unterschiedlichen anti-inflammatorischen M2 Subtypen besitzen unterschiedliche Funktionen, Zeitspannen und Prävalenzen in der Initiation und Resolution von Inflammation. Während in der Initiationsphase vorwiegend inflammatorische M1 Makrophagen vorzufinden sind, ist der Wechsel zu Makrophagen mit anti-inflammatorischen Eigenschaften für die Resolution unerlässlich. Allerdings sind die verschiedenen Funktionen der anti-inflammatorischen Makrophagen-Subtypen im Hinblick auf kardiale Erkrankungen noch immer nicht geklärt.

Im Fokus von klinischen Studien stehen aktuell zellbasierte Therapien zur Behandlung von kardialen Erkrankungen. Vielversprechende Ergebnisse werden durch die Verwendung von mesenchymalen Stammzellen (MSZ) erwartet, die sich durch ihre einzigartige Fähigkeit der Selbsterneuerung und Multipotenz auszeichnen. Klinische Studien haben sowohl die Sicherheit als auch die Effizienz von MSZ bestätigt, jedoch konnten bisher nur vereinzelt erwünschte Ergebnisse durch MSZ-Transplantation erzielt werden. Noch ist nicht vollständig geklärt, wie MSZ ihr immunmodulatorisches Potential entfalten und zu einer Verbesserung der kardialen Funktion beitragen. Um einen Durchbruch in MSZ-basierten Therapien zu erzielen, sind daher die zugrundeliegenden Mechanismen eindeutig zu identifizieren. Makrophagen sind in der Lage ihre Physiologie als Reaktion auf Umweltreize anzupassen (M1/M2 Verschiebung). Diese Plastizität kann entsprechend durch Anwesenheit von immunsuppressiv-aktiven MSZ moduliert werden. In der durchgeführten Studie wiesen IFN- γ und IL-1 β -aktivierte MSZ im Hinblick auf die Modulation unterschiedlicher Makrophagenphänotypen eine deutlich verbesserte immunsuppressive Fähigkeit auf. Es wurde festgestellt, dass der Übergang zu einem anti-inflammatorischen Makrophagenphänotyp in Abhängigkeit von löslichem Stickoxid (NO) und Prostaglandin E2 (PGE2) erfolgt, die von prä-aktivierten MSZ in hohen Mengen freigesetzt werden. Da ein IL-6-Knockdown in MSZ nicht durchgeführt werden kann ohne das Sekretom zu beeinflussen,

wurden IL-6 Rezeptor alpha (IL-6R α)-defiziente Makrophagen verwendet, um ein funktionierendes IL-6 Signaling als Schlüsselkomponente für eine anti-inflammatorische Verschiebung zu identifizieren. Die Bedeutung von IL-6 wurde ferner durch Stimulation von Wildtyp-Makrophagen mittels rekombinantem IL-6 unter anti-inflammatorischen Zellkulturbedingungen bestätigt. Diese Makrophagen wiesen eine deutliche Hochregulierung der M2b-spezifischen Marker auf, wohingegen die Gene für M2a und M2c Subtypen nicht beeinflusst wurden. Folglich wurde gezeigt, dass Makrophagen, die mit prä-aktivierten MSZ unter inflammatorischen Bedingungen (IFN- γ +LPS) kointiviert wurden, Charakteristiken eines anti-inflammatorischen Phänotyps aufwiesen, wohingegen unter anti-inflammatorischen Zellkulturbedingungen (IL-4 als M2a-polarisierender Stimulus) von prä-aktivierten MSZ sekretiertes IL-6 ausschließlich einen regulatorischen M2b Phänotyp provozierte. Im Gegensatz dazu zeigten unstimulierte MSZ nur eine geringe Wirkung auf die Makrophagenpolarisation.

Im Rahmen dieser Studie wurde ein neues kardiales Hypertrophie Modell etabliert. In diesem Modell wurde Hypertrophie pharmakologisch mittels Phenylephrin (PE) in induziert-pluripotenten Stammzell-abgeleiteten Kardiomyozyten (iPS-KM) ausgelöst. Es zeigte sich, dass Hypertrophie sowohl mit Zellvergrößerung als auch mit einer Hochregulation der AKT Kinase-Aktivität und einer erhöhten Nor1-Expression einhergeht. Das Gap Junction Protein Connexin 43 (Cx43) zeigte einen biphasischen Verlauf. Nach 24 h PE-Behandlung zeigte sich eine Hochregulation dieses Proteins während im Verlauf der Hypertrophie (48 h PE-Behandlung) eine Suppression von Cx43 festgestellt werden konnte. Die Anwesenheit von anti-inflammatorischen Makrophagen sowie MSZ-medierte Makrophagenphänotypen führte zu einer Zellverkleinerung der hypertrophierten iPS-KM, die mit der Zellgröße von nicht-hypertrophierten Zellen korrelierte. Zudem konnte eine Abnahme der AKT Kinase-Aktivität und der Nor1-Expression beobachtet werden. In Anbetracht der positiven Effekte von Makrophagen mit anti-inflammatorischen Charakteristika (z.B. hervorgerufen durch Ko-Kultur mit prä-konditionierten MSZ), lässt sich vermuten, dass die beobachteten Modifikationen in der Cx43-Expression auch zu einer Regression der Hypertrophie beitragen, indem sie funktionelle interzelluläre Kommunikation ermöglichen. Bemerkenswert ist, dass diese Effekte durch lösliche Faktoren vermittelt wurden, während direkte Zellinteraktionen die durch MSZ vermittelten Effekte zu mildern schienen. Die vorliegende Studie hat somit gezeigt, dass anti-inflammatorische Makrophagen sowie MSZ-medierte Makrophagenphänotypen eine Regression der Hypertrophie hervorrufen. Aufgrund einer erhöhten immunsuppressiven Reaktionsbereitschaft könnte somit der Einsatz prä-aktivierter MSZ eine vielversprechende Option für zukünftige klinische Anwendungen darstellen. Darüber hinaus könnte MSZ-medierte Makrophagenpolarisation als neuer Ansatz zur Entwicklung zellbasierter Therapiestrategien dienen, um kardialen Erkrankungen durch eine kontrollierte Immunantwort entgegenzuwirken.