

BIBLIOGRAPHY

Title: GLUCOCORTICOID REGULATION OF HUMAN TH17 RESPONSES

(inaugural Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades Dr. nat. Med. der Medizinischen Fakultät und der Mathematisch Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität zu Köln)

Author: Juliana de Castro Kroner

Date of oral examination: 13.05.2019

Main reference: de Castro Kroner J, Knoke K, Kofler DM, Steiger J, Fabri M. Glucocorticoids promote intrinsic human TH17 differentiation. J Allergy Clin Immunol 2018; S0091-6749(18):31126-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.07.019>.

(Publication that first disclosed the research work addressed in the following abstract, as well as in the related PhD dissertation. Herewith, the author acknowledge the Journal and the original publication.).

ABSTRACT

Glucocorticoids (GCs) are powerful immunosuppressive drugs commonly used to control chronic inflammatory and autoimmune diseases. Nevertheless, GC therapy is not always successful: the failure incidence varies from 10 to 90%, depending on the disease. Th17 cells play a pathological role in many of these conditions and have been previously reported to be refractory to GCs. Recent studies identified however increased levels of IL-17 and circulating Th17 cells in GC-treated compared to GC-untreated patients, which cannot be explained by GC insensitivity — rather, this implies a stimulatory effect of GCs on Th17 responses. In the present study, we used human T cells from blood of healthy donors and from skin samples as an *in vitro* experimental model to investigate the effect of GCs on Th17 differentiation and function. We found that GCs alone are sufficient to trigger Th17 differentiation in naïve human CD4 T cells, an effect that cannot be reproduced or modified by other hormones of the steroid family (as vitamins A and D). GC-mediated induction of Th17 cells was associated with enhanced expression of Treg markers, as well as inhibition of Th2, and particularly of Th1 responses. The ability of GCs to favor Th17 over Th1 differentiation was not linked to increased production of Th17-driving cytokines (IL-1 β , IL-6 and TGF- β). However, GCs downregulated IL-2, a Th17 inhibitory factor. Consistently, increased Th17/Th1 ratios in GC-differentiated T cell cultures were prevented by the addition of exogenous IL-2. Also, IL-2/IL-2R blocking enhanced Th17/Th1 ratios, altogether suggesting a mechanistic role for IL-2 regulation behind

GC induction of Th17 cells. Functionally, IL-17-rich supernatants of T cells differentiated in the presence of GCs were superior at inducing antimicrobial peptides and pro-IL-1 β (pro-inflammatory) in human keratinocytes, despite decreased IFN- γ (pro-inflammatory) and increased IL-10 (anti-inflammatory) levels. Thus, by enhancing antimicrobial responses, GC-differentiated T cells may provide a potential advantage to the infected host. Finally, we extended our study to the memory fraction and showed that GCs can also promote Th17 over Th1 polarization among T cells from skin and pathogen-specific T cells from blood. In sum, we identified GCs as new promoters of human Th17 responses, a context in which GCs are not playing their classic suppressive role.

ZUSAMMENFASSUNG

Glukokortikoide (GC) sind potente Immunsuppressiva, welche häufig zur Behandlung chronischer Entzündungs- und Autoimmunerkrankungen eingesetzt werden. Dennoch ist eine GC-Therapie nicht immer erfolgreich: Ein Therapieversagen tritt, je nach Erkrankung, bei 10 bis 90% der Fälle auf. Bei vielen dieser Erkrankungen spielen Th17-Zellen eine wesentliche pathologische Rolle, und es ist bekannt, dass sich Th17-Zellen gegenüber GC resistent verhalten können. Neuere Studien identifizierten aber auch erhöhte Konzentrationen von IL-17 und zirkulierenden Th17-Zellen in GC-behandelten verglichen mit GC-unbehandelten Patienten. Dies ist nicht alleine durch eine GC-Resistenz zu erklären, sondern deutet auf eine stimulierende Wirkung von GC auf Th17-Antworten hin. In der vorliegenden Arbeit gingen wir daher der Hypothese nach, ob GC die Th17-Differenzierung und deren Funktion fördern können. Hierzu verwendeten wir menschliche T-Zellen aus Blut von gesunden Spendern sowie Hautproben als experimentelle *in-vitro* Modelle. Wir konnten zeigen, dass GC allein ausreichen, um eine Th17-Differenzierung in naiven humanen CD4-T-Zellen auszulösen. Andere Hormone der Steroidfamilie (Vitamin A und D) hingegen konnten weder Th17-Zellen induzieren noch die GC-vermittelte Th17-Differenzierung beeinflussen. GC-induzierte T-Zellen zeigten eine verstärkte Expression von Treg-Markern sowie eine reduzierte Th2- und vor allem Th1-Differenzierung. Die Fähigkeit von GC, eine Th17-Differenzierung gegenüber einer Th1-Differenzierung zu verstärken, war nicht mit einer gesteigerten Produktion von Th17-fördernden

Zytokinen (IL-1 β , IL-6 und TGF- β) assoziiert. Jedoch reduzierten GC autokrines IL-2, einen Th17-inhibierenden Faktor. Ferner wurde das erhöhte Th17/Th1-Gleichgewicht in GC-differenzierten T-Zellkulturen durch Zugabe von exogenem IL-2 aufgehoben. Die Blockade des IL-2/IL-2-Rezeptor-Paares hingegen führte zu einer Erhöhung des Th17/Th1-Verhältnisses. Zusammengefasst deuten diese Ergebnisse auf eine wesentliche mechanistische Rolle der IL-2-Regulation bei der GC-Induktion von Th17-Zellen hin. Funktionell waren IL-17-reiche Überstände von GC-differenzierten T-Zellen denen von nicht-GC-differenzierten T-Zellen in der Induktion von antimikrobiellen Peptiden und pro-IL-1 β (pro-inflammatorisch) in human Keratinozyten überlegen und dies, obwohl die T-Zell-Überstände weniger IFN- γ (pro-inflammatorisch) und mehr IL-10 (anti-inflammatorisch) enthielten. Daher könnten GC-induzierte T-Zellen für die Immunabwehr gegen Infektionen vorteilhaft sein. Schließlich zeigten wir auch für Gedächtnis-T-Zellen aus Haut und Blut, dass GC eine Th17-Polarisierung gegenüber einer Th1-Polarisierung fördern. Zusammenfassend identifizierten wir GC als neue Stimulatoren menschlicher Th17-Reaktionen, ein Zusammenhang, in dem GC nicht ihre klassische immunsuppressive Rolle spielen.