

Aus dem Institut für Medizinische Immunologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Hepatitis B spezifische zelluläre Immunität bei Patienten mit allogener
Nierentransplantation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Max Christian Peter Friedrich
aus Berlin

Datum der Promotion: 25.06.2017

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung / Abstract	1
2. Eidesstattliche Versicherung einschließlich Anteilserklärung	3
3. Auszug aus der Journal Summary List	6
4. Druckexemplare der ausgewählten Publikation	7
▪ “Comparing Humoral and Cellular Immune Response Against HBV Vaccine in Kidney Transplant Patients.”	
5. Lebenslauf	15
6. Publikationsliste	17
7. Danksagung	18

1. Zusammenfassung / Abstract

Abstract

Protective immunity upon vaccination requires the generation of humoral and robust T-cell responses of sufficient quantity and quality. To explore cellular Hepatitis B surface antigen (HBsAg)-specific immunity and its correlation with humoral immune responses under immunosuppression, we analysed different T-cell subsets in renal transplant recipients, differing in their humoral response to HBV vaccination (non (NR)-, low (LR)- and high-responder (HR)) and in 22 healthy controls (HC).

Flow cytometry was used to analyze HBsAg-specific T-cells according to their expression of activation markers CD40L and/or CD69, and their cytokines IFN γ , IL-2, TNF α , and IL-17.

There were no significant differences in responder rate and magnitude of HBsAg-specific T-cell responses were found between HC and HR. Remarkably, HBsAg-specific Th-cells were found in 50% of humoral NR. Frequencies of HBsAg-specific CD40L⁺ Th-cells were significantly higher in HR compared to LR ($p=0.009$) and in LR in comparison to NR ($p=0.043$). Multi-potent HBsAg-specific TNF α +IL-2⁺ Th-cells showed predominance in all groups, except in NR. As expected, HBsAg-specific CD8⁺ T-cells were hardly observed.

In conclusion, mounting of hepatitis B vaccine-specific T-cell responses is possible in kidney transplant patients despite immunosuppression. Detection of HBV-specific Th-cells in a significant proportion of humoral NR contributes to the current discussion if immune protection can be conferred by cellular memory in such patients.

Zusammenfassung

Ein ausreichender Impfschutz wird durch das komplexe Zusammenspiel des humoralen und der zellulären Komponente des Immunsystems erreicht. Um die Hepatitis B Oberflächen-Antigen (HBsAg) spezifische zelluläre Immunität und deren Korrelation mit der humoralen Immunantwort unter immunsuppressiver Therapie zu untersuchen, wurden verschiedene T-Zellpopulationen von 51 nierentransplantierten Patienten und einer Kontrollgruppe (KG) aus 22 gesunden Probanden untersucht.

Entsprechend der Höhe des Impftiters nach HBV Impfung wurden die nierentransplantierten Probanden in Non (NR)-, Low (LR)- und High-responder (HR) eingeteilt.

HBsAg spezifische T-Zellen wurden mittels Durchflusszytometrie anhand der Expression der Aktivierungsmarker CD40-Ligand (CD40L) und/oder CD69 und der Zytokine IFN γ , IL-2, TNF α und IL-17 untersucht.

Es wurden keine signifikanten Unterschiede in der Qualität und Quantität der HBsAg spezifische T-Zellenreaktion zwischen HR und KG gefunden. HBsAg spezifische T-Zellen wurden interessanterweise in 50% der humoralen NR detektiert. Die Frequenzen HBsAg-spezifischer CD40L+ T-Zellen waren signifikant höher in HR im Vergleich zu LR ($p=0.009$), sowie in LR im Vergleich zu NR ($p=0.043$). In allen Gruppen außer den NR waren HBsAg-spezifische multipotente T-Zellen (TNF α +IL-2+) in der Mehrzahl. In Übereinstimmung mit publizierten Daten wurden HBsAg-spezifische CD8⁺ T-Zellen in nur ca. 20% der Patienten detektiert.

Unsere Studie zeigt deutlich, dass die Etablierung einer HBV-spezifischen, T-Zell-vermittelten Impfantwort in nierentransplantierten Patienten trotz immunsuppressiver Therapie möglich ist. Ferner trägt die Tatsache, dass eine signifikante Quantität spezifischer T-Zellen in NR gefunden wurde zu der Diskussion bei, inwieweit zelluläre Gedächtniszellen in solchen Patienten auch einen Impfschutz vermitteln können.

2. Eidesstattliche Versicherung einschließlich Anteilserklärung

„Ich, Max Christian Peter Friedrich, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Hepatitis B spezifische zelluläre Immunität bei Patienten nach allogener Nierentransplantation“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Mein Anteil an der ausgewählten Publikation entspricht dem, der in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit der Betreuerin, Prof. Dr. med. Nina Babel, angegeben ist.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Berlin, den 04.02.2016

Unterschrift

Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Publikation : „Comparing humoral and cellular immune response against HBV-vaccine in kidney transplant patients“

American Journal of Transplantation, 2015

Beitrag im Einzelnen:

Peter Friedrich, Berlin-Brandenburg Center for Regenerative Therapies (BCRT): praktische Arbeit 80%, Statistische Auswertung 95%, Studiendesign 10%, Verfassen der Publikation und Erstellung der Grafiken 55%

Arne Sattler, (BCRT): praktische Arbeit 10%, Verfassen der Publikation und Erstellung der Grafiken 15 %

Karin Müller, (BCRT): Statistische Auswertung 5%

Mikalai Nienen, (Marien Krankenhaus Herne, Ruhr Universität Bochum): praktische Arbeit 10%

Petra Reinke, (BCRT und Nephrologie, Charité): Studiendesign 45%

Nina Babel, (BCRT und Marien Krankenhaus Herne, Ruhr Universität Bochum): Studiendesign 45%, Verfassen der Publikation und Erstellung der Grafiken 30%,

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrerin, Prof. Dr. med.

Nina Babel

Unterschrift des Doktoranden, Peter Friedrich

3. Auszug aus der Journal Summary List

JCR-Web 4.5 Marked List

<http://admin-apps.webofknowledge.com/JCR/JCR?RQ=LIS...>

ISI Web of KnowledgeSM

Journal Citation Reports[®]



2014 JCR Science Edition

MARKED JOURNAL LIST

Sorted by: 5 Year Impact Factor

Abbreviated Journal Title	ISSN	2014 Total Cites	Impact Factor	5-Year Impact Factor	Immediacy Index	2014 Articles	Cited Half-life	Eigenfactor [®] Score	Article Influence [®] Score
AM J TRANSPLANT	1600-6135	18092	5.683	5.717	1.334	299	5.5	0.05320	2.003
J HEART LUNG TRANSPL	1053-2498	8562	6.650	4.914	1.576	144	5.5	0.02437	1.746
STEM CELLS DEV	1547-3287	6061	3.727	4.055	0.881	269	3.7	0.01909	1.069
LIVER TRANSPLANT	1527-6465	9357	4.241	3.921	0.899	159	7.3	0.01762	1.213
BIOL BLOOD MARROW TR	1083-8791	7164	3.404	3.615	0.876	275	5.0	0.02229	1.240
TRANSPLANTATION	0041-1337	24021	3.828	3.604	0.713	376	9.4	0.03823	1.187
NEPHROL DIAL TRANSPL	0931-0509	22479	3.577	3.457	1.096	332	6.6	0.04807	1.055
BONE MARROW TRANSPL	0268-3369	10530	3.570	3.379	0.801	211	8.6	0.01725	1.051
CELL TRANSPLANT	0963-6897	4424	3.127	3.257	0.496	139	4.6	0.01075	0.823
TRANSPL INT	0934-0874	3833	2.599	2.739	0.841	145	5.5	0.00995	0.869
CURR OPIN ORGAN TRAN	1087-2418	1531	2.880	2.666	0.616	86	3.9	0.00698	0.910
XENOTRANSPLANTATION	0908-665X	1159	2.840	2.613	0.788	52	6.1	0.00173	0.532
TRANSPL INFECT DIS	1398-2273	1738	2.064	2.043	0.333	141	4.6	0.00542	0.635
ARTIF ORGANS	0160-564X	3132	2.050	1.652	0.573	143	6.8	0.00472	0.366
TRANSPL IMMUNOL	0966-3274	1296	1.457	1.616	0.444	63	6.8	0.00274	0.520
CLIN TRANSPLANT	0902-0063	3613	1.522	1.576	0.182	181	6.6	0.00862	0.531
PEDIATR TRANSPLANT	1397-3142	2560	1.441	1.566	0.320	172	5.7	0.00652	0.503
ASAIIO J	1058-2916	2131	1.516	1.430	0.417	132	8.2	0.00382	0.480
INT J ARTIF ORGANS	0391-3988	1727	0.962	1.352	0.128	94	7.7	0.00280	0.355
J ARTIF ORGANS	1434-7229	592	1.441	1.268	0.136	59	4.8	0.00110	0.256
ANN TRANSPL	1425-9524	636	1.261	1.104	0.221	77	4.1	0.00177	0.330
TRANSPL P	0041-1345	12150	0.982	1.029	0.079	807	7.5	0.01985	0.275
PROG TRANSPLANT	1526-9248	523	0.835	0.969	0.096	52	6.2	0.00131	0.322
EXP CLIN TRANSPLANT	1304-0855	448	0.622	0.759	0.175	114	4.0	0.00129	0.205
TRANSPLANT REV-ORLAN	0955-470X	522	3.816		0.615	26	3.9	0.00191	

[Acceptable Use Policy](#)

Copyright © 2015 Thomson Reuters.



4. Druckexemplar der ausgewählten Publikation

P. Friedrich , A. Sattler, K.Müller, M. Nienen, P. Reinke and N. Babel. *Comparing Humoral and Cellular Immune Response Against HBV Vaccine in Kidney Transplant Patients*. American Journal of Transplantation 2015;15(12):3157-65.

<https://doi.org/10.1111/ajt.13380>

Impact Factor: 5,683

5. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

6. Publikationsliste

1. Mueller K, Schachtner T, Sattler A, Meier S, Friedrich P, Trydzenskaya H, Hinrichs C, Trappe R, Thiel A, Reinke P, Babel N. *BK-VP3 as a new target of cellular immunity in BK virus infection*. Transplantation 2011; 91(1): 100-7.

Impact Factor: 3,828

2. Trydzenskaya H, Sattler A, Müller K, Schachtner T, Dang-Heine C, Friedrich P, Nickel P, Hoerstrup J, Schindler R, Thiel A, Melzig MF, Reinke P, Babel N. *Novel Approach for Improved Assessment of Phenotypic and Functional Characteristics of BKV-Specific T-Cell Immunity*. Transplantation 2011; 92(11): 1269-77.

Impact Factor: 3,828

3. P. Friedrich , A. Sattler, K.Müller, M. Nienen, P. Reinke and N. Babel. *Comparing Humoral and Cellular Immune Response Against HBV Vaccine in Kidney Transplant Patients*. American Journal of Transplantation 2015;15(12):3157-65. doi: 10.1111/ajt.13380.

Impact Factor: 5,683

7. Danksagung

Für das Gelingen meiner Doktorarbeit möchte ich mich bei sehr vielen Menschen herzlichen bedanken. Besonders möchte ich mich bei meiner Doktormutter Prof. Dr. Nina Babel für die Möglichkeit bedanken, in Ihrem Arbeitskreis meine Promotionsarbeit anfertigen zu dürfen. Sie war stets eine Quelle der Inspiration und sorgte mit viel Energie und Schwung für das Gelingen der Arbeit.

Ein sehr großer Dank gilt Dr. Arne Sattler, der während der ganzen Arbeit immer wieder mit Rat und Tat geduldig zur Seite stand.

Des Weiteren möchte ich mich bei meiner Frau und meinen Eltern bedanken, die mich stets bestärkt und unterstützt haben.

Ein großer Dank geht aber auch an alle meine Kollegen. Die Zusammenarbeit mit ihnen war mir stets eine große Freude und Stimulus.