

Imbalanced Inflammatory Responses in Preterm and Term Cord Blood Monocytes and Expansion of the CD14⁺CD16⁺ Subset upon Toll-like Receptor Stimulation

Kirsten Glaser^{1*}, David Kern², Christian P. Speer², Nicolas Schlegel³, Michael Schwab⁴, Ulrich H. Thome¹, Christoph Härtel², Clyde J. Wright⁵

¹ Center for Pediatric Research Leipzig, Division of Neonatology, Department of Women's and Children's Health, University of Leipzig Medical Center, Leipzig, Germany

² University Children's Hospital, University of Würzburg, Würzburg, Germany

³ Department of General, Visceral, Transplantation, Vascular and Pediatric Surgery, University of Würzburg, Würzburg, Germany

⁴ Department of Obstetrics and Gynecology, University of Würzburg, Würzburg, Germany

⁵ Section of Neonatology, Department of Pediatrics, University of Colorado School of Medicine, Children's Hospital Colorado, Aurora, Colorado, USA



Hintergrund: Neu- und insbesondere Frühgeborene haben ein hohes Risiko für schwere Infektionen und Inflammations-vermittelte Folgeerkrankungen. Eine Neigung zu überschießender oder persistierender Inflammation wird diskutiert. Gleichwohl sind die Pathomechanismen nur teilweise verstanden. Experimentelle Arbeiten lassen Besonderheiten der neonatalen Toll-like Rezeptor (TLR)-Expression und Signaltransduktion vermuten. In der vorliegenden Studie wurden die Immunantwort neonataler Monozyten, die Aktivierung TLR-assoziierter Signalproteine und die Verteilung der CD14-Subpopulationen nach TLR-Stimulation untersucht und mit dem Immunprofil adulter Monozyten verglichen. **Methoden:** Primär isolierte Monozyten aus dem Nabelschnurblut Früh- und Neugeborener und adulte Monozyten wurden mit Pam3CSK4, Zymosan, Polyinosinsäure:Polycytidylsäure, Lipopolysaccharid (LPS), Flagellin and CpG-Oligonukleotid stimuliert – Agonisten des TLR1/2-, TLR2/6-, TLR3-, TLR4-, TLR5- und TLR9-Signalwegs. Die Expression pro- und antiinflammatorischer Mediatoren wurde mittels RT-qPCR, Durchflusszytometrie und Bead-basierter Multiplex-Analyse analysiert. Parallel wurden die Stimulus-induzierte TLR-Expression, die Phosphorylierung der Signalproteine p65, p38, ERK1/2, SAPK/JNK und IRF3/7 und das Verhältnis der Monozyten-Subpopulationen auf mRNA-Ebene sowie durchflusszytometrisch untersucht. **Ergebnisse:** Während die proinflammatorische Immunantwort neonataler Monozyten qualitativ und quantitativ jener adulter Zellen entsprach, wurden – Stimulus-unabhängig – signifikant niedrigere IL-10 und IL-1ra-Antworten und konsekutiv höhere Quotienten aus pro- zu antiinflammatorischen Zytokinen detektiert. Es fanden sich keine Unterschiede in der Kinetik der Phosphorylierung von p65, p38 und ERK1/2, jedoch unterschieden sich neonatale und adulte Monozyten in der Stimulus-vermittelten Expression der TLR-Rezeptoren TLR1-5. Weiterhin wiesen stimulierte Monozyten aus dem Nabelschnurblut Früh- und Neugeborener einen signifikant höheren Anteil an intermediären (CD14⁺CD16⁺) Monozyten auf. Jene Expansion der intermediären Subpopulation war am ausgeprägtesten nach Stimulation mit Pam3CSK4, Zymosan und LPS. **Schlussfolgerungen:** Unsere Daten belegen eine robuste proinflammatorische, aber verminderte antiinflammatorische Immunantwort von Früh- und Neugeborenen-Monozyten mit konsekutivem Zytokin-Ungleichgewicht. Der höhere Anteil an verstärkt proinflammatorischen CD14⁺CD16⁺ Monozyten könnte einen zugrundeliegenden Mechanismus darstellen. Die vorliegende Arbeit bestärkt die Hypothese, dass die neonatale Immunantwort in eine überschießende und persistierende Entzündungsreaktion einmünden kann.