

Donor tissue-mediated graft tolerance induced by soluble CD83

Inaugural Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades
Dr. nat. med.

der Medizinischen Fakultät
und
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von

Alfrun Schönberg

aus Soltau

Sedruck KG, Köln
2025

Betreuer

Prof. Dr. Felix Bock

Referenten:

Prof. Dr. Sabine Eming

Prof. Dr. Björn Schumacher

Datum der mündlichen Prüfung:

09.04.2025

Summary

The waiting lists for organ and tissue transplants are long worldwide. The frequency of transplant rejection should therefore be minimized, which is a major challenge for medicine. Since immune system reactions against the transplant are considered the greatest risk for rejection, immunosuppressants are part of the postoperative standard repertoire. However, instead of jeopardizing the transplant and the recipient's health with immunosuppression, existing immune system mechanisms could also be used for tolerance-inducing immunoregulation.

A particularity of the cornea, in addition to its angiogenic and immunological privileged status, is the possible cultivation of the transplant for up to four weeks, easing the urgency in finding a suitable recipient and providing room for new treatment strategies. This study focuses on donor tissue-mediated transplant tolerance as a new treatment approach for transplantations.

In the first part of the study, the effects of pre-incubating donor corneas with soluble CD83 (sCD83) on high-risk transplant survival and the immunological microenvironment were examined in a mouse model. Due to the hydrophilicity of the corneal stroma, an sCD83 reservoir is established during cultivation, which is released into the recipient bed post-transplantation, leading to prolonged survival of the high-risk transplant. This is associated with tolerance-associated changes on a cellular and molecular level in the submandibular lymph nodes and the cornea itself.

In the second part of the study, a "removal strategy" was developed to eliminate excess sCD83 after pre-incubation, and TLR4-deficient donor tissue - TLR4 identified as an indirect binding partner of sCD83 - was used to determine the donor-mediated effect on high-risk transplant survival. *In vivo* and *in vitro* experiments suggest that both direct and semi-direct alloantigen recognition play a role in sCD83-mediated transplant tolerance.

In the third part of the study, the pre-incubation of donor tissue was transferred to a non-privileged transplantation model. Preliminary experiments showed no effect of sCD83 pre-incubated skin transplants on transplant survival. However, tolerance-associated changes on a cellular level were observed in the inguinal lymph nodes.

In summary, pre-incubating donor tissue with sCD83 prevents acute transplant rejection in the murine high-risk corneal transplant model. This is associated with a permanently altered immunological microenvironment in the cornea itself and in the

draining lymph nodes, which can be transferred to other transplantation models. Ultimately, the study discusses an innovative treatment approach that could replace or complement current treatment strategies and contribute to addressing the challenges associated with transplantations.

Zusammenfassung

Die weltweiten Wartelisten für Organ- und Gewebetransplantate sind lang. Daher sollte die Häufigkeit von Transplantatabstoßungen so gering wie möglich gehalten werden, was eine große Herausforderung für die Medizin darstellt. Da Reaktionen des Immunsystems gegen das Transplantat als größtes Risiko für eine Abstoßung gelten, gehören Immunsuppressiva zum postoperativen Standardrepertoire. Anstatt mit einer Immunsuppression das Transplantat und die Gesundheit des Empfängers zu gefährden, könnten die bereits bestehenden Mechanismen des Immunsystems zu einer Toleranz-induzierenden Immunregulation genutzt werden.

Eine Besonderheit der Hornhaut ist, neben dem angiogenen und immunologischen privilegierten Status, die mögliche Kultivierung des Transplantats von bis zu vier Wochen. Dies entschärft zum einen die Dringlichkeit der Suche nach einem passenden Empfänger und eröffnet zum anderen Raum für neue Behandlungsstrategien.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Spendergewebe-vermittelten Transplantattoleranz als neuen Behandlungsansatz für Transplantationen.

Im ersten Teil der Arbeit wurden die Auswirkungen der Vorinkubation von Spenderhornhäuten mit löslichem CD83 (sCD83) auf das Hochrisiko-Transplantatüberleben und die immunologische Mikroumgebung im Mausmodell untersucht. Aufgrund der Hydrophilie des kornealen Stromas wird während der Kultivierung ein sCD83-Reservoir etabliert, welches nach Transplantation in das Empfängerbett freigesetzt wird und zu einem verlängerten Überleben des Hochrisikotransplantats führt. Des Weiteren wurden Toleranz-assoziierte Veränderungen auf zellulärer und molekularbiologischer Ebene in den submandibulären Lymphknoten und der Hornhaut selbst festgestellt.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde eine „Removal-Strategie“ entwickelt, um überschüssiges sCD83 nach Vorinkubation zu entfernen sowie TLR4-defizientes Spendergewebe – TLR4 gilt als indirekter Bindungspartner von sCD83 – eingesetzt, um den Spender-vermittelten Effekt auf das Hochrisiko-Transplantatüberleben zu bestimmen. *In vivo* und *in vitro* Experimente deuten darauf hin, dass sowohl die direkte als auch semi-direkte Alloantigenerkennung bei der sCD83-vermittelten Transplantattoleranz eine Rolle spielen.

Im dritten Teil der Arbeit wurde die Vorinkubation des Spendergewebes auf ein nicht-privilegiertes Transplantationsmodell übertragen. Vorversuche zeigten zwar keinen Effekt des sCD83-vorinkubierten Hauttransplantats auf das Transplantatüberleben, jedoch Toleranz-assoziierte Veränderungen auf zellulärer Ebene in den inguinalen Lymphknoten.

Zusammenfassend verhindert die Vorinkubation des Spendergewebes mit sCD83 die akute Transplantatabstoßung im murinen Hochrisiko-Hornhauttransplantationsmodell. Diese ist mit einer dauerhaft veränderten immunologischen Mikroumgebung in der Hornhaut selbst sowie in den drainierenden Lymphknoten verbunden, welche sich auf andere Transplantationsmodelle übertragen lässt. Letztendlich wird in der vorliegenden Arbeit ein innovativer Behandlungsansatz erörtert, welcher derzeitige Behandlungsstrategien ersetzen oder ergänzen könnte und dazu beitragen kann, die mit Transplantationen verbundenen Herausforderungen zu bewältigen.