

Dendritic cells in hyperlipidemia-associated atherosclerosis

Citation for published version (APA):

Christ, A. (2013). *Dendritic cells in hyperlipidemia-associated atherosclerosis*. Uitgeverij BOXPress.

Document status and date:

Published: 01/01/2013

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Summary

Atherosclerosis, the underlying pathological process of most cardiovascular diseases (CVDs), is a chronic inflammatory disease, which critically implies specialized immune cells such as monocytes/ macrophages, granulocytes, B and T cells in its pathomechanism. Activated immune cells elaborate a range of inflammatory processes, which tremendously account for disease onset and progression. In recent years another immune cell subset, dendritic cells (DCs), has been identified in the healthy and diseased vasculature. DCs, specialized antigen-presenting cells (APCs), are essential in linking innate and adaptive immune responses against pathogen-derived, but also modified self-antigens present at sites of injury, thus triggering T cell-mediated immunity. DC numbers were described to be elevated in advanced human atherosclerotic plaques, mainly present in inflammatory foci within the plaque shoulder. In this regard, a possible role for DCs as contributors to inflammatory processes in atherosclerosis is attaining more and more attention. Particular plaque-derived epitopes that might induce DC maturation and activation within their local context have not been identified yet. Additionally, the maintenance of antigen-presentation and T cell priming ability by DCs under hyperlipidemic conditions, even after excessive lipid-loading remains poorly understood, and studies addressing these issues are diverging. Consequently, this thesis focuses on elucidating the contribution of certain DC subsets in hyperlipidemia-associated atherosclerosis. Besides, it addresses the question whether a hypercholesterolemic environment interferes with DC activation and its ability to prime T cell immune responses.

Studying dendritic cell (DC) biology in a majority of cardiovascular diseases (CVDs) has gained intensive attention in the last years, due to their prominence to trigger adaptive immune responses. Nevertheless, the full scope of DC-driven effects in CVDs is still unclear. In **Chapter 2** we present an in-depth overview of the current knowledge on the impact of DC subsets on several CVDs in order to reveal underlying patterns, and to demonstrate gaps and shortcomings in the knowledge of DC function in CVDs. Besides, we highlight the therapeutic potential of DCs in cardiac transplantation which may provide an example for a future atherosclerosis vaccination strategy.

pDCs are thought to contribute to atherosclerotic lesion formation in human by a type I interferon (IFN) signature. In **Chapter 3** we demonstrated

the scarcely presence of pDCs within the human plaque, whereas they are almost completely absent in murine atherosclerotic lesions. Surprisingly, pDC ablation by systemic administration of the 120G monoclonal antibody was seen to aggravate lesion formation in low-density lipoprotein receptor deficient (*Ldlr*^{-/-}) mice, thus attributing pDCs an athero-protective role. In keeping, peripheral lymphoid organ pDCs from atherosclerotic mice dampened T cell activation and proliferation in an indoleamine 2,3- dioxygenase (IDO)-dependent manner. Altogether, our research identifies a tolerogenic role for pDCs in atherosclerosis, rendering them an interesting new target for future therapeutic approaches.

In **Chapter 4** we made additional use of the inducible pDC ablation model based on the transgenic diphtheria toxin receptor (DTR) expression under the pDC-specific human blood dendritic cell antigen 2 (BDCA-2) promoter. Administration of diphtheria toxin (DT) to BDCA-2 DTR transgenic *Ldlr*^{-/-} mice resulted in an almost complete pDC ablation. To explore pDC-induced CD4⁺ T cell immunity in atherosclerosis a subset of mice obtained a CD4⁺ T cell depletion antibody. Next to pDC depletion, prolonged DT administration induced unexpected systemic toxicity and immune cell modulations, shown by a dramatic increase in circulating granulocyte counts accompanied by tremendous immune cell infiltration in the lungs. We thus conclude that the BDCA-2 DTR model, while technically interesting in acute disease models, is not appropriate to study pDC immunity in a chronic disease as atherosclerosis, due to unrequested ectopic side-effects caused by repeated DT application.

pDCs are crucial in anti-viral defense mechanisms through the rapid release of huge amounts of type I IFNs. Factors in their environment, such as lipoproteins, might interfere with signaling pathways crucial for pDC-mediated immune responses. In **Chapter 5** we addressed the question whether a hyperlipidemic environment leads to impaired functionality of human pDCs. Indeed, we have demonstrated that exposure to excessive amounts of pro-atherogenic lipoproteins (LDL and oxLDL) completely ablated Toll-like receptor 9 (TLR9) agonist induced pDC activation *in vitro*, shown by the quenched production of pro-inflammatory cytokines, as well as the up-regulation of maturation markers. In keeping, oxLDL-induced abrogation of pDC stimulation profoundly impaired their ability to trigger CD4⁺ T helper (Th) cells. It remains to be elusive whether such an association between hyperlipidemia and pDC

IFN-response compromises the host's pathogen defense capacity in hyperlipidemic patients.

In **Chapter 6** we additionally addressed temporal effects of dietary-induced hypercholesterolemia on DC (precursor) homeostasis, and consequences of lipid accumulation on phenotype and T cell priming capability of lymphoid organ DC subsets in *Ldlr*^{-/-} mice. Congruent to results described in Chapter 5, lipid loading by peripheral conventional DC (cDC) subsets was accompanied by a sharply reduced capacity to stimulate naïve T cells, a finding that may have consequences for host defense mechanisms against infectious diseases.

In **Chapter 7** we addressed the question whether pDCs, rarely present in the human advanced plaque, impact their local context. Hereto, we applied genome-wide microarraying and bioinformatics analyses on pDC-enriched and pDC-deficient plaque fragments, isolated by laser capture microdissection from human carotid endarterectomy tissue samples. Network analysis and subsequent module-trait correlation analysis were performed to identify co-expressed gene module clusters for macrophages, T cells and microvessels, tightly linked to pDC presence within the plaque. Amongst others, we characterized immune clusters in the T cell module being involved in Th1/ Th17 differentiation, stressing the idea that pDCs exert immunogenic functions, even though exposed to modified lipoproteins. Conclusively, this study promotes the concept that pDCs interfere their immune cell context in the human plaque.

Finally, **Chapter 8** discusses the most relevant findings of this thesis and provides future perspectives. Altogether, this thesis affords novel insights into DC biology in hyperlipidemia-associated atherosclerosis both in animal models and in human, emphasizing an athero-protective role for murine pDCs. Otherwise, pDCs in the human advanced atherosclerotic plaque likely induce Th1/ Th17 responses within their local immune cell context. Moreover, we demonstrated that a cholesterol-rich environment impairs the functionality of peripheral lymphoid organ DC subsets, thus potentially interfering with the host's immunity against pathogen-derived signals.

Samenvatting

Samenvatting

Atherosclerose, het pathologische proces wat ten grondslag ligt aan de meeste cardiovasculaire ziekten (CVZ), is een chronisch inflammatoire aandoening. Hierbij spelen gespecialiseerde immuun cellen zoals monocyten/macrofagen, granulocyten, B en T cellen een grote rol. Geactiveerde immuun cellen zijn verantwoordelijk voor een aantal ontstekingsreacties, die bijdragen aan het ontstaan en de progressie van atherosclerose. Recent werd een ander immuun celtype gedetecteerd in normale en atherosclerotische slagaders, namelijk de dendritische cel (DC). DCs, gespecialiseerde antigeen presenterende cellen, zijn essentieel voor het koppelen van het aangeboren en het verworven immuun systeem. Ze kunnen een T cel immuun respons opwekken tegen exogene, maar ook gemodificeerde auto-antigenen aanwezig bij schade. Een verhoogd aantal DCs werd in gevorderde atherosclerotische plaques gevonden, voornamelijk in schouder regio's met veel inflammatoire loci. Er wordt dan ook meer en meer aandacht besteed aan de mogelijke bijdrage van DCs aan de ontstekingsprocessen in atherosclerose. Plaque-specifieke epitopen, die DC ontwikkeling en activering lokaal kunnen induceren, zijn tot nog toe niet geïdentificeerd. Verder is over het behoud van antigeen presentatie en T cel activering door DCs in hyperlipidemie, zelfs na overmatige vetophoping in de DC, nog maar weinig bekend en resultaten van reeds uitgevoerde studies zijn niet eenduidig. Dit proefschrift focust dan ook op de bijdrage van DC subtypes in hyperlipidemie-geassocieerde atherosclerose – lokaal in de plaque, maar ook in perifere lymfoïde organen. Daarnaast wordt de vraagstelling behandeld of hypercholesterolemie de activering van DC en de resulterende T cel immuun respons, beïnvloedt.

In de afgelopen jaren werd veel aandacht besteed aan het bestuderen van DC biologie in de meeste CVZ, omdat DC een adaptieve immuun respons opwekken. Toch is het volledige spectrum van DC-gemedieerde effecten in CVZ nog steeds niet bekend. In **Hoofdstuk 2** geven we een diepgaand overzicht van de huidige kennis over de rol van DC subtypes in CVZ. Hier proberen we ook onderliggende patronen te ontrafelen en tekortkomingen in de kennis over DC functie in CVZ in kaart te brengen. Daarnaast benadrukken we het mogelijk therapeutische potentieel van DCs voor harttransplantaties en als mogelijk vaccin tegen atherosclerose.

Plasmacytoïde DCs (pDC) kunnen bijdragen aan het ontstaan van atherosclerotische plaques via een type I interferon (IFN) respons. We tonen in **Hoofdstuk 3** dat pDCs nauwelijks voorkomen in humane plaques, en bovendien bijna helemaal afwezig zijn in atherosclerotische plaques van muizen. In tegenstelling tot verwacht, verergerde de antilichaam-gemedieerde depletie van pDCs de ontwikkeling van plaques in low-density lipoproteïne receptor deficiënte (*Ldlr*^{-/-}) muizen. Dit suggereert dat in de *Ldlr*^{-/-} muis pDCs een anti-atherogeen effect hebben. Bovendien veroorzaken pDCs uit perifere lymfoïde organen van atherosclerotische muizen een remming van T cel activering en proliferatie. Dit tolerogene effect werd gemedieerd via indoleamine 2,3- dioxygenase. De T-cel remming door pDCs verklaart waarschijnlijk het anti-atherogene effect van pDCs. Concluderend, onze studie identificeert een tolerogene rol voor pDCs in atherosclerose en maakt ze daarom een interessant doel voor toekomstige therapeutische strategieën.

In **hoofdstuk 4** gebruiken wij een induceerbaar pDC depletie model, waarin transgene expressie van de difterie toxine receptor (DTR) onder de controle staat van de pDC-specifieke humane dendritische cel antigen 2 (BDCA-2) promotor. Toediening van difterie toxine (DT) aan BDCA-2 DTR transgene *Ldlr*^{-/-} muizen resulteerde in een bijna complete pDC depletie. Om de pDC-geïnduceerde CD4⁺ T cel immuniteit in atherosclerose te bestuderen, werd een CD4⁺ T cel depleterend antilichaam aan een subgroep van muizen gegeven. Herhaalde DT toediening resulteerde echter niet alleen in pDC ablatie, maar induceerde ook onverwachte systemische toxiciteit en moduleerde immuun cellen. Deze bijwerkingen werden duidelijk door de waarneming van verhoogde aantallen circulerende granulocyten met gelijktijdige infiltratie van de long door immuun cellen. Wij kunnen dus concluderen, dat het BDCA-2 DTR model niet geschikt is om pDC immuniteit in de chronische ziekte atherosclerose te bestuderen, omdat de DT toediening ectopische bijwerkingen veroorzaakt. Aan de andere kant, zou het systeem wél technisch interessant zijn als model voor acute ziekten.

pDCs zijn belangrijk voor antivirale afweermechanismen door hun snelle en grote productie van type I IFNs. Factoren in de omgeving van pDCs, zoals lipoproteïnen, zouden de immuun signalering van pDCs kunnen beïnvloeden. In **hoofdstuk 5** hebben wij bestudeerd wat de effecten van hyperlipidemie zijn op de functie van humane pDCs. Inderdaad zagen wij *in vitro*, dat de activatie van pDCs, geïnduceerd door een Toll-like receptor 9

(TLR9) agonist, geremd wordt door een overmaat van de pro-atherogene lipoproteïnen LDL en oxLDL. Deze remming van pDC activatie werd zichtbaar door een verlaagde pro-inflammatoire cytokine productie en een verhoogde expressie van maturatie markers. In overeenstemming daarmee was de stimulatie van CD4⁺ T helper cellen door pDCs verlaagd in de aanwezigheid van oxLDL. Desondanks moet nog bevestigd worden of het remmende effect van hyperlipidemie op de IFN productie door pDCs, werkelijk het afweermecanisme van hyperlipidemische patiënten tegen pathogenen kan verminderen.

In **hoofdstuk 6** onderzochten wij het temporele effect van dieet-geïnduceerde hypercholesterolemie op de ontwikkeling en rijping van muis DCs. Verder bestudeerden wij de gevolgen van vetopname door muis pDCs, geïsoleerd uit perifere lymfoïde organen, op DC fenotype en DC-gemedieerde cel stimulatie. In overeenstemming met de pDC resultaten van hoofdstuk 5, veroorzaakt vetopname door perifere conventionele DC (cDC) ook een sterk verminderde stimulatie van naïve T cellen. Dit resultaat heeft mogelijk nadelige gevolgen voor de afweermecanismen tegen infectie ziekten.

In **hoofdstuk 7** bestudeerden wij of pDCs hun lokale omgeving kunnen beïnvloeden, ondanks het lage aantal pDCs in vergevorderde humane plaques. In operatief verwijderde humane arteria carotis plaques werden segmenten geïdentificeerd met hoge concentratie pDCs en afwezige pDCs. Na extractie van de segmenten met laser capture microdissectie, werd RNA geïsoleerd voor een gen expressie analyse van het hele genoom. Bio informatica analyses werden gebruikt om gen clusters te identificeren specifiek voor macrofagen, T cellen en microvaten, die een sterk verband vertoonden met de aanwezigheid van pDCs. Met deze techniek werd een T-cel gen cluster geïdentificeerd, wat de aanwezigheid van pDCs relateerde aan Th1/Th17 differentiatie. Dit suggereert dat pDCs toch in staat zijn een immuun respons te veroorzaken, ondanks blootstelling aan lipoproteïnen in de plaque. Deze studie ondersteunt het concept dat pDCs de immuun cellen in humane plaques kunnen beïnvloeden.

Tenslotte werden in **hoofdstuk 8** de meest opmerkelijke bevindingen van deze thesis bediscussieerd en toekomstverwachtingen aangegeven. Samenvattend, geven de resultaten in deze thesis nieuwe inzichten over DC biologie in hyperlipidemie-geassocieerde atherosclerose in dier modellen en in de humane situatie. In het bijzonder, ondersteunen de resultaten een anti-

atherogene rol voor pDCs in de muis. In tegenstelling daarmee, lijken pDCs in gevorderde humane plaques juist in staat om een Th1/Th17, dus pro-inflammatoire reactie in hun lokale immuun cel omgeving te stimuleren. Bovendien hebben wij aangetoond, dat een cholesterol-rijke omgeving de functie van perifere pDCs en cDCs kan remmen. Cholesterol zou dus mogelijk ook het afweermecanisme tegen exogene pathogenen kunnen remmen.

Zusammenfassung

Zusammenfassung

Arteriosklerose, der zugrunde liegende pathologische Prozess der meisten kardiovaskulären Erkrankungen, ist eine chronisch entzündliche Gefäßerkrankung, in deren Pathomechanismus spezifische Immunzellen, unter anderem Monozyten/ Makrophagen, Granulozyten, B- und T-Zellen, impliziert sind. Aktivierte Immunzellen führen eine Anzahl an entzündlichen Prozessen durch, welche entscheidend zum Beginn und dem Voranschreiten der Krankheit beitragen. In den letzten Jahren wurde ein weiterer Immunzell-Subtyp in gesunden und erkrankten Blutgefäßen identifiziert – dendritische Zellen. Dendritische Zellen sind spezialisierte Antigen-präsentierende Zellen, welche eine zentrale Rolle in der angeborenen und erworbenen Immunantwort spielen, indem sie Antigene von Krankheitserregern oder modifizierte körpereigene Antigene naiven T-Zellen präsentieren und somit die T-Zell vermittelte Immunität stimulieren. Mehrere Studien haben eine Zunahme von dendritischen Zellen in humanen vorangeschrittenen arteriosklerotischen Plaques beschrieben, hauptsächlich in entzündlichen Herden in der Schulterregion der Plaques. Diese Ergebnisse haben dazu beigetragen, dendritischen Zellen eine Rolle in entzündlichen Prozessen in der Arterioskleroseentstehung zuzuschreiben. Spezifische, in den Plaques vorkommende Epitope, welche die Reifung und Aktivierung der dendritischen Zellen induzieren könnten, wurden bisher nicht identifiziert. Zudem ist es bis jetzt unklar, ob dendritische Zellen in einer hyperlipidämischen Umgebung – nach übermäßiger intrazellulärer Lipidanreicherung - ihre Funktion als Antigen-präsentierende Zellen beibehalten und T-Zellen in gleichem Maße stimulieren können. Folglich fokussiert sich diese Doktorarbeit darauf, die Funktion verschiedener dendritischer Zell-Subtypen in der hyperlipidämischen-assoziierten Arteriosklerose aufzuklären. Zudem, wird in dieser Thesis untersucht, ob eine hypercholesterolämische Umgebung die Aktivierung dendritischer Zellen und deren Fähigkeit T-Zell Immunantworten zu schärfen beeinträchtigt.

Da dendritischer Zellen die erworbene Immunantwort triggern, hat die Untersuchung ihrer Immunobiologie in einer Mehrzahl von kardiovaskulären Erkrankungen in den letzten Jahren intensive Aufmerksamkeit erlangt. Nichtsdestotrotz ist der volle Umfang der Auswirkungen, welche durch dendritische Zellen angetrieben werden, bisher unklar. In **Kapitel 2**

präsentieren wir eine fundamentale Übersicht über das momentane Wissen des Einflusses dendritischer Zell-Subtypen in verschiedenen kardiovaskulären Erkrankungen, um grundlegende Muster zu zeigen, und Lücken und Unzulänglichkeiten über die Funktion von dendritischen Zellen aufzudecken. Des Weiteren heben wir das therapeutische Potential dendritischer Zellen in der Herztransplantation hervor, welches als Beispiel für zukünftige Impfungsstrategien in der Arterioskleroseforschung herangezogen werden könnte.

Es wird vermutet, dass plasmazytoide dendritische Zellen durch das Freisetzen von Typ I Interferonen zur Ausbildung von arteriosklerotischen Plaques beitragen. In **Kapitel 3** demonstrieren wir die spärliche Anwesenheit plasmazytoider dendritischer Zellen in humanen Plaques, wohingegen sie in murinen arteriosklerotischen Läsionen nicht vorzufinden sind. Die Entfernung plasmazytoider dendritischer Zellen durch die systemische Verabreichung des monoklonalen Antikörpers 120G8 in *low-density* Lipoprotein-Rezeptor defizienten Mäusen hat unerwarteterweise eine Verschärfung der arteriosklerotischen Plaques hervorgerufen, welches auf eine protektive Rolle plasmazytoider dendritischer Zellen in der Arteriosklerose hindeutet. Im Einklang mit diesem Resultat konnten wir zeigen, dass plasmazytoide dendritische Zellen, welche aus den peripheren lymphoiden Organen arteriosklerotischer Mäuse isoliert wurden, die T-Zellaktivierung und deren Proliferation in einer *indoleamine 2,3-dioxygenase* (IDO)-abhängigen Art gedämpft haben. Zusammengefasst zeigen unsere Daten, dass plasmazytoide dendritische Zellen eine tolerogene Funktion in der Arteriosklerose übernehmen, welches sie zu einem interessanten Zielobjekt für zukünftige therapeutische Ansätze macht.

In **Kapitel 4** haben wir Gebrauch von einem weiteren induzierbaren plasmazytoiden dendritischen Zell Ablationsmodell gemacht, basierend auf der Expression des transgenen Diphtheria Toxin Rezeptors unter dem plasmazytoiden dendritischen Zell-spezifischen Promoter BDCA-2 (*blood dendritic cell antigen 2*). Die Verabreichung von Diphtheria Toxin zu BDCA-2 transgenen *low-density* Lipoprotein-Rezeptor defizienten Mäusen resultierte in der fast vollständigen Depletion plasmazytoider dendritischer Zellen. Um die plasmazytoide dendritische Zell-induzierte CD4⁺ T-Zell Immunität in der Arteriosklerose zu untersuchen, wurde einem Teil der Mäuse zusätzlich ein CD4⁺ T-Zell Depletionsantikörper eingespritzt. Neben der Entfernung

plasmazytoider dendritischer Zellen hat die anhaltende Verabreichung von Diphtheria Toxin jedoch unerwartete Nebeneffekte hervorgerufen. Unter anderem haben wir eine systemische Toxizität und Immunzellmodulationen festgestellt, verdeutlicht durch die dramatische Zunahme zirkulierender Granulozyten, und begleitet durch die enorme Einwanderung von Immunzellen in die Lunge. Hierdurch schlussfolgern wir, dass das BDCA-2 Diphtheria Toxin Rezeptor Modell, welches in der Untersuchung akuter Krankheitsmodelle technisch interessant ist, aufgrund der unerwünschten Nebeneffekte nicht anwendbar ist, um die Immunbiologie plasmazytoider dendritischer Zellen in chronischen Erkrankungen wie der Arteriosklerose zu untersuchen.

Plasmazytoide dendritische Zellen sind durch die schnelle Freisetzung großer Mengen von Typ I Interferonen unentbehrlich in der antiviralen Abwehr. Faktoren in ihrer direkten Umgebung, wie zum Beispiel Lipoproteine, könnten Signalwege, welche wichtig für plasmazytoide dendritische Zell-vermittelte Immunantworten sind, behindern. In **Kapitel 5** haben wir untersucht, ob eine hyperlipidämische Umgebung zu einer verminderten Funktionalität humaner plasmazytoider dendritischer Zellen führt. Wir konnten in der Tat zeigen, dass die *Toll-like* Rezeptor 9 Agonist induzierte Aktivierung plasmazytoider dendritischer Zellen nach Aussetzen in eine hyperlipidämische Umgebung *in vitro* komplett gehemmt wurde. Dies wurde durch die signifikant verminderte Freisetzung pro-entzündlicher Zytokine, sowie die gedämpfte Expression von Maturierungsmarkern bewiesen. In Übereinstimmung mit diesen Resultaten konnten wir zeigen, dass die Fähigkeit plasmazytoider dendritischer Zellen CD4⁺ T-Helfer Zellen zu aktivieren, in der Gegenwart von oxLDL schwer beeinträchtigt wurde. Es bleibt zu untersuchen, ob die Assoziierung zwischen Hyperlipidämie und plasmazytoider dendritischer Zell-vermittelter Interferon-Antwort die Abwehrkapazität gegen Krankheitserreger in hyperlipidämischen Patienten gefährdet.

In **Kapitel 6** haben wir die zeitlichen Effekte einer Diät-induzierten Hypercholesterolämie in *low-density* Lipoprotein-Rezeptor defizienten Mäusen auf die Homeostase dendritischer (Vorläufer-) Zellen untersucht. Zudem haben wir erforscht, ob die Lipidanreicherung in dendritischen Zell-Subtypen, isoliert aus lymphoiden Organen, deren Phänotyp verändert und ihre Fähigkeit T-Zellen zu stimulieren, beeinträchtigt. Übereinstimmend mit unseren Resultaten in Kapitel 5 konnten wir hier zeigen, dass die intrazelluläre Lipidanreicherung in peripheren konventionellen dendritischen Zell-Subtypen

zu einer Verminderung ihrer Kapazität, naive T-Zellen zu stimulieren, führte; eine Erkenntnis, welche Konsequenzen für die Immunabwehr gegen infektiöse Erreger haben könnte.

In **Kapitel 7** haben wir erforscht, ob plasmazytoide dendritische Zellen, welche spärlich in vorangeschrittenen humanen Plaques vorzufinden sind, einen Einfluss auf ihr lokales Umfeld ausüben. Hierzu haben wir Plaque Regionen aus humanen Karotis-Gewebeproben mit Hilfe der *Laser Capture* Mikroskopie isoliert, welche plasmazytoide dendritische Zellen enthielten oder negativ für diese Zellen waren. Anschließend wurde ein Genom-weites *Microarraying* mit bioinformatischer Analyse auf diese Proben appliziert. *Network* und nachfolgende *module-trait* Korrelationsanalysen wurden durchgeführt, um Ko-expressions *Cluster*-Module für Makrophagen, T-Zellen und Mikrogefäße zu identifizieren, welche mit der Anwesenheit plasmazytoider dendritischer Zellen in den humanen arteriosklerotischen Plaques verknüpft werden können. Wir konnten unter anderem Immun-Cluster im T-Zellmodul charakterisieren, welche in die T-Helfer 1/ T-Helfer 17 Differenzierung involviert sind. Diese Resultate unterstützen die Hypothese, dass plasmazytoide dendritische Zellen immunogene Funktionen in humanen Plaques ausüben, obwohl sie einer Lipid-reichen Umgebung ausgesetzt sind. Zusammenfassend avanciert diese Studie das Konzept, dass plasmazytoide dendritische Zellen in humanen arteriosklerotischen Läsionen einen Einfluss auf ihren Immunzell-Kontext ausüben.

Letzlich diskutiert **Kapitel 8** die wichtigsten Erkenntnisse dieser Doktorarbeit und bietet Zukunftsperspektiven. Zusammenfassend gibt diese These einen neuen Einblick in die Biologie dendritischer Zellen in der hyperlipidämischen-assoziierten Arteriosklerose. Wir konnten eine protektive Rolle für plasmazytoide dendritische Zellen in der Maus-Arteriosklerose zeigen. Andererseits sind plasmazytoide dendritische Zellen wahrscheinlich in die Induktion von inflammatorischen T-Helferzellen in humanen arteriosklerotischen Plaques involviert. Des Weiteren haben wir demonstriert, dass eine Cholesterol-reiche Umgebung die Funktionalität peripherer dendritischer Zell-Subtypen beeinträchtigt, welches enorme Konsequenzen für die Immunabwehr gegen infektiöse Erreger haben könnte.

