

Nadine Ballicas<sup>1,2</sup>, Georg Stary<sup>1-3</sup>

## Mikrobiom-Dynamik bei akuter GVHD der Haut: Auswirkungen auf die Post-Transplantationsversorgung

<sup>1</sup>Abteilung für Dermatologie, Medizinische Universität Wien, 1090, Wien, Österreich.

<sup>2</sup>CeMM Forschungszentrum für Molekulare Medizin der Österreichischen Akademie der Wissenschaften, 1090, Wien, Österreich.

<sup>3</sup>Ludwig-Boltzmann-Institut für seltene und undiagnostizierte Krankheiten, 1090, Wien, Österreich

Knochenmarktransplantationen sind eine lebensrettende Maßnahmen für zahlreiche Menschen, die an Blutkrebs leiden. Trotz ihrer Wirksamkeit ist die Transplantat-gegen-Wirt-Krankheit (Graft-versus-Host Disease, GVHD) jedoch nach wie vor eine schwere und potenziell lebensbedrohliche Komplikation<sup>1</sup>. Bei der intestinalen GVHD ist bekannt, dass die Zusammensetzung des Mikrobioms einen wesentlichen Beitrag zur Entwicklung der Krankheit leistet und sogar nachgewiesen wurde, dass sie die GVHD unabhängig von den genetischen Unterschieden zwischen Spender und Empfänger reguliert<sup>2</sup>. Während die Störung des Darmmikrobioms und die sich daraus ergebenden klinischen Folgen nach allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation (alloHCT) gut dokumentiert sind, ist über die Bedeutung des residenten Mikrobioms in anderen Barriereorganen, wie der Haut, wenig bekannt. Da die GVHD der Haut das häufigste und erste Anzeichen der Erkrankung ist<sup>1</sup>, haben wir eine umfassende Untersuchung zur Rolle des Mikrobioms der Haut bei GVHD-Patienten durchgeführt.

Um die Auswirkungen der Stammzelltransplantation auf das kutane Mikrobiom zu untersuchen, wurde die Haut von 50 Patienten bis zu einem Jahr nach alloHCT an der Abteilung für Knochenmarktransplantation der Medizinischen Universität Wien mittels 16S-Amplikon-Sequenzierung analysiert. Patienten, die eine akute GVHD der Haut entwickelten, zeichneten sich durch eine signifikante Reduktion der bakteriellen Diversität auf der Haut aus. Dieser Rückgang war bei schweren GVHD-Fällen signifikant höher und ging sogar dem Auftreten der Symptome voraus. Gleichzeitig wurde in GVHD-Hautläsionen eine erhöhte Prävalenz von Staphylokokken beobachtet. Staphylokokken sind Teil des „gesunden“ Hautmikrobioms, können aber auch schwere Infektionskrankheiten auslösen (siehe Abbildung).

Darüber hinaus zeigten Immunfluoreszenzfärbungen von Biopsien aus GVHD-Hautläsionen eine verstärkte Kolo-kalisierung von Staphylokokken und CD45<sup>+</sup>-Leukozyten in der Epidermis bereits vor Ausbruch der Krankheit. Diese Asso-

N. Ballicas<sup>1,2</sup>, G. Stary<sup>1-3</sup>

## Microbiome dynamics in acute skin GVHD: Implications for post-transplant care

<sup>1</sup>Department of Dermatology, Medical University of Vienna, 1090, Vienna, Austria.

<sup>2</sup>CeMM Research Center for Molecular Medicine of the Austrian Academy of Sciences, 1090, Vienna, Austria.

<sup>3</sup>Ludwig Boltzmann Institute for Rare and Undiagnosed Diseases, 1090, Vienna, Austria

Bone marrow transplants are a lifesaving intervention for numerous individuals suffering from blood cancer. However, despite its efficacy, graft-versus-host disease (GVHD) continues to be a severe and potentially life-threatening complication<sup>1</sup>. For intestinal GVHD it is well understood that the composition of the microbiome is a major contributor to the development of the disease and has even been shown to regulate GVHD regardless of differences in genetics between the donor and the recipient<sup>2</sup>. While the disturbance of the gut microbiome and its resulting clinical implications after alloHCT are well-documented, little is known about the significance of the residing microbiome in other barrier organs, such as the skin. As skin GVHD stands out as the most prevalent and often initial indication of the disease<sup>1</sup>, we conducted an extensive investigation into the role of the skin's microbiome in GVHD patients.

To examine the effect of stem cell transplantation on the cutaneous microbiome, the skin of 50 patients was analyzed up to one year after alloHCT at the Department of Bone Marrow Transplantation at the Medical University of Vienna using 16S amplicon sequencing. Patients who developed acute skin GVHD were notably characterized by a significant reduction in bacterial diversity on the skin. The decrease was significantly higher in severe GVHD cases, and even preceded the symptom onset. At the same time, an elevated prevalence of staphylococci was observed in GVHD skin lesions. *Staphylococcus spp.* are part of the “healthy” skin microbiome but can also trigger severe infectious diseases (see figure).

Furthermore, immunofluorescence stainings of biopsies taken from skin GVHD lesions revealed an increased co-localization of staphylococci and CD45<sup>+</sup> leukocytes in the epidermis even before the onset of the disease. This association correlated with increased expression of

ziation korrelierte mit einer erhöhten Expression von Genen, die an der Antigenpräsentation beteiligt sind (PSMB3, PSMD4 und TAPBP) in kutanen mononukleären Phagozyten (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>hoch</sup>). Gleichzeitig wurde in kutanen T-Zellen (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>HLA-DR)<sup>3</sup> eine Anreicherung von Signalwegen in Reaktion auf LPS sowie NF-kappaB beobachtet.

Zusammenfassend legen unsere Daten nahe, dass weitere eingehende Untersuchungen des Mikrobioms und des Immunsystems des Wirts zur Entdeckung neuer biologischer Marker führen könnten, deren frühzeitige Identifizierung Patienten mit einem höheren Risiko für Komplikationen nach der Transplantation, insbesondere GVHD, helfen könnte. Ein besseres Verständnis des komplizierten Netzwerks mikrobieller Interaktionen wird uns auch in die Lage versetzen, präzisere Behandlungen für Dysbiose anzubieten, die mit anderen entzündlichen Hauterkrankungen wie atopischer Dermatitis<sup>4</sup> oder intestinaler GVHD durch fäkale Mikrobiota-Transplantationen<sup>5,6</sup> in Verbindung gebracht wurde. Darüber hinaus ist die Beeinflussung mikrobieller Gemeinschaften durch Probiotika<sup>7</sup>, Präbiotika<sup>8</sup> oder genetisch veränderte Phagen<sup>9</sup> ein vielversprechender Ansatz für künftige Standardtherapien für alloHCT-Patienten. Diese Ansätze zielen darauf ab, optimale therapeutische Ergebnisse und eine Überwachung nach der Behandlung zu erreichen und gleichzeitig schwere Komplikationen im Zusammenhang mit der Transplantation zu vermindern.

Es sind jedoch weitere Forschungsarbeiten erforderlich, um zu untersuchen, wie sich residente Mikroben in verschiedenen Kontexten verhalten, und um die potenziellen entzündlichen Eigenschaften zu verstehen, die durch stammspezifische Unterschiede bestimmt werden. Dies erfordert die Durchführung von Ganzgenomsequenzierungen sowohl der intestinalen als auch der kutanen Mikrobiota vor und nach einer Stammzelltransplantation, insbesondere im Hinblick auf die Entwicklung einer GVHD. Trotz der zunehmenden Verfügbarkeit von Ganzgenomdaten über das Darmmikrobiom bei HSZT-Empfängern fehlen Studien, die sich auf das Mikrobiom der Haut oder anderer Schleimhautoberflächen konzentrieren. Es besteht daher eindeutig Bedarf an weiteren Untersuchungen, um speziesspezifische Unterschiede bei Patienten mit GVHD der Haut festzustellen, mit besonderem Schwerpunkt auf *Staphylococcus* spp., bevor eine Behandlung eingeleitet wird.

**Korrespondenz:** georg.stary@meduniwien.ac.at

genes involved in antigen presentation (PSMB3, PSMD4 und TAPBP) in cutaneous mononuclear phagocytes (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>high</sup>). Simultaneously, an enrichment of signaling pathways in response to LPS as well as NF-kappaB were observed in cutaneous T cells (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>HLA-DR)<sup>3</sup>.

In conclusion, our data suggest that further in-depth examinations of the microbiome and the host's immune system could lead to the discovery of novel biological markers that could aid in the early identification of patients at a higher risk of post-transplant complications, particularly GVHD. Enhanced comprehension of the intricate network of microbial interactions will also enable us to offer more precise treatments for dysbiosis, which has been linked to other inflammatory skin conditions such as atopic dermatitis<sup>4</sup> or intestinal GVHD through fecal microbiota transplants<sup>5,6</sup>. Furthermore, manipulating microbial communities using probiotics<sup>7</sup>, prebiotics<sup>8</sup> or genetically modified phages<sup>9</sup> holds significant promise as potential future standard therapies for alloHCT patients. These approaches aim to achieve optimal therapeutic outcomes and post-treatment monitoring while mitigating severe complications associated with transplantation.

However, further research is necessary to explore how resident microbes behave in different contexts and to understand the potential inflammatory characteristics governed by strain-specific differences. This necessitates conducting whole-genome sequencing of both intestinal and cutaneous microbiota before and after stem cell transplantation, particularly concerning the development of GVHD. Despite the increasing availability of whole-genome data on the intestinal microbiome in HSCT recipients, studies focusing on the cutaneous microbiome or other mucosal surfaces are lacking. Hence, there is a clear need for further investigation to establish species-specific differences in patients with skin GVHD, with particular emphasis on *Staphylococcus* spp., before initiating any treatment.

**Correspondence:** georg.stary@meduniwien.ac.at



*Staphylococcus*-Wachstum auf der Haut von GVHD-Patienten, (links) Abstrich von einem nicht betroffenen Hautbereich vs. (rechts) Hautläsion bei GVHD.

*Staphylococcus*-growth on the skin of GVHD-patients, (left) swap of a non-involved area vs. (right) skin affected by GVHD.

## References

1. Reshef R, Saber W, Bolaños-Meade J, Chen G, Chen YB, Ho VT, et al. Acute GVHD diagnosis and adjudication in a Multicenter Trial: A Report From the BMT CTN 1202 Biorepository Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2021 Jun 10;39(17):1878–87.
2. Koyama M, Hippe DS, Srinivasan S, Proll SC, Miltiados O, Li N, et al. Intestinal microbiota controls graft-versus-host disease independent of donor-host genetic disparity. *Immunity*. 2023 Aug 8;56(8):1876–93.e8.
3. Bayer N, Hausmann B, Pandey RV, Deckert F, Gail LM, Strobl J, et al. Disturbances in microbial skin recolonization and cutaneous immune response following allogeneic stem cell transfer. *Leukemia*. 2022 Nov;36(11):2705–14.
4. Nakatsuji T, Hata TR, Tong Y, Cheng JY, Shafiq F, Butcher AM, et al. Development of a human skin commensal microbe for bacteriotherapy of atopic dermatitis and use in a phase 1 randomized clinical trial. *Nat Med*. 2021 Apr;27(4):700–9.
5. Spindelboeck W, Halwachs B, Bayer N, Huber-Krassnitzer B, Schulz E, Uhl B, et al. Antibiotic use and ileocolonic immune cells in patients receiving fecal microbiota transplantation for refractory intestinal GvHD: a prospective cohort study. *Ther Adv Hematol*. 2021;12:20406207211058333.
6. van Lier YF, Davids M, Haverkate NJE, de Groot PF, Donker ML, Meijer E, et al. Donor fecal microbiota transplantation ameliorates intestinal graft-versus-host disease in allogeneic hematopoietic cell transplant recipients. *Sci Transl Med*. 2020 Aug 12;12(556):eaaz8926.
7. Yazdandoust E, Hajifathali A, Roshandel E, Zarif MN, Pourfathollah AA, Parkhideh S, et al. Gut microbiota intervention by pre and probiotics can induce regulatory T cells and reduce the risk of severe acute GVHD following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Immunol*. 2023 Jun 1;78:101836.
8. Yoshifuji K, Inamoto K, Kiridoshi Y, Takeshita K, Sasajima S, Shiraishi Y, et al. Prebiotics protect against acute graft-versus-host disease and preserve the gut microbiota in stem cell transplantation. *Blood Adv*. 2020 Sep 29;4(19):4607–17.
9. Górski A, Jończyk-Matysiak E, Międzybrodzki R, Weber-Dąbrowska B, Borysowski J. “Phage transplantation in allotransplantation”: Possible treatment in graft-versus-host disease? *Front Immunol*. 2018 Apr 27;9:941.

<https://doi.org/10.61783/oegdv10011>