

Henriette Schneider

Dr. med.

## **Einfluss der Arginase humaner Granulozyten auf die Funktion von T-Lymphozyten**

Geboren am 07.05.1981 in Dresden

Staatsexamen am 8.5.2006 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Immunologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. S. Meuer

Der Metabolismus der Aminosäure Arginin ist wesentlich beteiligt an zahlreichen Mechanismen der Immunregulation. Argininmangel ist pathogenetisch involviert in das Phänomen der inflammations-assoziierten Immunsuppression im Rahmen zahlreicher Krankheitsentitäten. Im Rahmen von Tumorerkrankungen scheint Arginindepletion im Tumor-Mikromilieu wesentlich die Tumor-Immunantwort zu inhibieren. Arginin wird hierbei durch das Enzym Arginase zu Ornithin und Harnstoff hydrolysiert.

Da Arginase I konstitutiv in humanen Granulozyten (PMN) exprimiert wird lagen die Ziele dieser Promotionsarbeit in der genauen Charakterisierung des Einflusses von PMN-Arginase auf die Funktionen humaner T-Zellen. Dabei konnte gezeigt werden, dass PMN-Arginase über eine lokale Arginin-Depletion zu einer deutlichen Verminderung der T-Zellaktivierung führt. Dies zeigte sich zum einen bei der durchflusszytometrischen Analyse wichtiger T-Zell-assoziiertes Proteine bzw. Aktivierungsmarker (TZR  $\zeta$ -Kette, CD25 und HLA-DR), die alle bei Argininmangel vermindert exprimiert wurden, während CD69, ein potentieller negativer Regulator von T-Zellfunktionen bei Arginin-Deprivation vermehrt exprimiert wurde.

Es konnte mittels verschiedener Methoden eine vollständige Suppression der T-Zellproliferation bei PMN-vermittelter Arginin-Depletion gezeigt werden. Eine Depletion von Arginin führte dagegen zu keiner Beeinflussung von Apoptose oder Viabilität humaner T-Lymphozyten (Durchflusszytometrie). Während die Zytokinsekretion (ELISA) von T-Zellen bei Arginindepletion deutlich verringert ist, zeigt sich kein Einfluss von Argininmangel auf die Zytokin-Gen-Transkription (Quantifizierung von IL-2- und IFN- $\gamma$ -mRNA mittels Real Time PCR). Die Zugabe des spezifischen Arginase-Inhibitors norNOHA konnte bei allen Versuchen (Oberflächenmarker, TZR- $\zeta$ -Kette, Zytokinsekretion und T-Zellproliferation) die von der PMN-Arginase verursachten Effekte verhindern. Bei Aktivierung von T-Zellen in argininfreiem Medium konnte die Proliferation der T-Zellen ( $^3\text{H}$ -

Thymidin-Inkorporation) durch Zugabe von Citrullin partiell regeneriert werden. Dieses Ergebnis korrelierte mit der nachweisbaren ASS-Expression (Western Blot) in Jurkat- und in primären humanen T-Zellen und führte zu der Hypothese einer vom Citrullin ausgehenden, lymphozytären Argininsynthese bei Argininmangel. Abschließend ließ sich als möglicher intrazellulärer Mechanismus bei Argininmangel eine vermehrte Phosphorylierung des Transkriptionsfaktors eIF2 $\alpha$  nachweisen

Zusammenfassend konnte das Promotionsprojekt wesentliche Aspekte der Inhibition von T-Zellfunktionen durch PMN-Arginase vermittelte Arginin-Depletion aufklären. Diese Erkenntnisse sind wichtig für das Studium der T-Zell-Immunreaktionen *in vivo* im Rahmen von granulozytären Entzündungsreaktionen. Weiterhin liefern sie eine mögliche Erklärung dafür, warum bislang mit Immunstimulanzien im Rahmen chronischer Entzündungen oder bei Tumorstabilisierung keine signifikanten klinischen Erfolge erzielt werden konnten. Um künftig wirkungsvoll in die durch Granulozyten-Arginase-vermittelte Immunregulation bei chronischer Inflammation und Tumoren eingreifen zu können, ist das Studium der inflammationsassoziierten positiven und negativen Regulationsmechanismen essentiell. Die spezifische Modulation dieser Mechanismen sollte zu einer effizienten und dennoch möglichst nebenwirkungsarmen Therapie dieser Krankheitsentitäten führen.