

Ariane Dösch
Dr. med.

Pro-inflammatorische Effekte von löslichem und membranständigem LIGHT (TNFSF-14)

Geboren am: 13.08.1980 in Rostock
3. Staatsexamen am 10.05.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Thomas J. Dengler

Es ist einer der Schwerpunkte weltweiter Forschungsprojekte, den Einfluss von Immunzellen und inflammatorischen Zytokinen auf die Pathogenese verschiedener Krankheitsbilder zu beleuchten. Die TNF-Superfamilie bildet in diesem Zusammenhang eine besonders wichtige und interessante Gruppe. Mitglieder wie TNF alpha, FasLigand und CD40-Ligand sind ein integraler Bestandteil bei einer großen Bandbreite von Erkrankungen. Das Wissen um ihre Pathogenität hat zur Entwicklung spezieller Medikamente wie beispielsweise TNF alpha Antagonisten geführt und bietet bei vielen Erkrankungen eine neue Therapiemöglichkeit (zum Beispiel Infliximab bei Morbus Crohn).

In der vorliegenden Arbeit wurde unter diesen Aspekten das relativ neu entdeckte TNF-Superfamilien-Mitglied LIGHT (homologous to *lymphotoxins*, exhibits *inducible expression and competes with HSV glycoprotein D for HEVM*, a receptor expressed by *T lymphocytes*) analysiert. Im Rahmen verschiedener Versuche wurden Immunzellen, insbesondere Lymphozyten und monozytäre Zellen, im Durchflusszytometer und der RT-PCR auf eine bestehende LIGHT Expression hin untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass LIGHT besonders stark auf der Oberfläche von CD8- und CD4-T-Lymphozyten exprimiert wird und durch Stimulation mit beispielsweise PHA+IL-2 steigerbar ist. Innerhalb der Monozytenpopulation bestätigte sich die Vermutung, dass sich LIGHT nur bei differenzierten Makrophagen und THP-1 Zellen nachweisen lässt (RT-PCR). Dies unterstreicht die Bedeutung von LIGHT im Rahmen von fortgeschrittenen Entzündungen und Erkrankungen, die eine lympho- oder makrozytäre Beteiligung involvieren.

Ein weiteres interessantes Ergebnis ist die erstmals in dieser Arbeit beschriebene ausführliche Charakterisierung von sLIGHT. Die ELISA-Analyse von Zellkulturüberständen zeigte, dass sLIGHT in besonderem Maße von CD4- und CD8-T-Lymphozyten produziert wird und analog zu den durchflusszytometrischen Ergebnissen nur in geringer Konzentration im Monozyten Überstand vorliegt. Dank spezieller Größenuntersuchungsmethoden wie Western Blot, Zentrifugation mit Membranfiltern vorgegebener Größe und letztendlich durch eine Größenausschlusschromatographie gelang die Ermittlung der molekularen Größe von sLIGHT (circa 20 kDa) und der Nachweis einer physiologischen Trimerkonfiguration (circa 60 kDa). Um die biologische Wirksamkeit von sLIGHT und membranösem LIGHT zu vergleichen, wurde LIGHT in 293-Zellen und Ag8-Zellen kloniert. Die Inkubation von einerseits membranösem LIGHT (LIGHTAg8-Zellen) und sLIGHT (293-Zellkulturüberstand) mit HUVEC zeigte, dass beide LIGHT- Varianten in der Lage sind die Expression von IL-8 (RT-PCR) sowie ICAM-1 (FACS) zu steigern, wobei physiologisches sLIGHT eine etwas

stärkere Potenz aufwies. Diese Unterschiede in der biologischen Aktivität könnten durch die nachgewiesene Trimerkonfiguration von sLIGHT erklärbar sein und verdeutlichen die wichtige Rolle von sLIGHT als inflammatorisches Zytokin insbesondere im Hinblick auf eine Endothelzellaktivierung.

Ein weiteres neues Ergebnis ist die Erkenntnis, dass sLIGHT wie andere TNF-Superfamilienmitglieder (zum Beispiel sCD40-Ligand), durch die proteolytische Aktivität von MMP-Inhibitoren generiert wird. Dadurch ist bewiesen, dass es sich bei sLIGHT im Zellkulturüberstand nicht um eine eigenständig sezernierte RNA-Form von LIGHT handelt, sondern um die abgespaltene Extrazellulärdomäne von membranösem LIGHT. Dies spiegelt das enge Zusammenspiel und die gegensinnige Regulation von sLIGHT und membranösem LIGHT wider und könnte Ausgangspunkt für eine Therapie mit MMP-Inhibitoren sein.

Um die klinische Relevanz von sLIGHT zu untermauern, führten wir Analysen von Plasmaproben verschiedener Patientenkollektive durch. In diesem Kontext zeigten sich erhöhte sLIGHT-Konzentrationen bei Patienten mit einer chronischen Hepatitis C sowie bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis. Die Ergebnisse bestärkten die These, dass sLIGHT neben kardiovaskulären Erkrankungen insbesondere bei Pathologien, die mit aktivierten T-Lymphozyten und Makrophagen in Zusammenhang stehen eine wichtige Rolle zu spielen scheint.

Insgesamt verdeutlichen die in dieser Arbeit gefundenen Ergebnisse die vielfältigen Funktionen von LIGHT und sLIGHT und bieten einen Ausblick in die Zukunft mit sich eventuell neu erschließenden klinischen Anwendungsbereichen.