

Johanna Ried  
Dr. med.

## **Einfluss des Argininstoffwechsels auf die Funktion humaner NK-Zellen**

Geboren am 04.07.1982 in Frankfurt am Main  
Staatsexamen am 15.05.2009 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Immunologie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. S. Meuer

Der Argininmetabolismus spielt eine wichtige Rolle für die Immunregulation. Arginin wird v. a. durch zwei Enzyme abgebaut - iNOS und Arginase - die beide an der Infektionsabwehr, an chronischen Entzündungsverläufen und im Rahmen von tumorimmunologischen Prozessen beteiligt sind. Arginase ist in den azurophilen Granula humaner Granulozyten lokalisiert, sowie in zahlreichen Entzündungsmilieus und Tumoren zu finden. Eine Arginase-bedingte Arginindepletion bewirkt eine Hemmung verschiedener T-Zellfunktionen, wie z. B. Proliferation, IFN- $\gamma$ -Sekretion und Expression der TZR $\zeta$ -Kette.

In dieser Arbeit wurde der Einfluss der granulozytären Arginase auf die Funktion humaner NK-Zellen untersucht. Ein Mangel an Arginin führt bei primären NK-Zellen und LAK-Zellen zu einer gehemmten Proliferation nach Stimulation mit IL-2. Bei Zugabe von Granulozytenonikot ist nur Arginase für die beobachtete Funktionseinschränkung verantwortlich, denn eine Inhibition des Enzyms mit nor-NOHA hebt die hemmende Wirkung des Granulozytenonikots auf. NK-Zellen bleiben im Argininmangelmilieu jedoch weitgehend viabel und zeigen keine vermehrte Apoptose. Der Zustand der Inaktivierung ist reversibel, die Zellen sind bei erneuter Stimulation in argininhaltiger Umgebung wieder zur Proliferation fähig. Die Expression des Aktivierungsmarkers CD69 auf NK-Zellen unterscheidet sich nicht in Abhängigkeit vom Arginingehalt. Ebenso lässt sich die Arginase-bedingte Funktionseinschränkung der NK-Zellen nicht durch eine veränderte Expression des IL-2-Rezeptors (CD25 und CD122) erklären.

Neben der Proliferation ist die Zytokinsekretion der NK-Zellen durch eine Arginase-vermittelte Arginindepletion deutlich eingeschränkt. Nach Stimulation mit IL-12 und IL-18, bzw. mit IL-2 und JY-Zellen sezernieren NK-Zellen bei Argininmangel deutlich weniger IFN- $\gamma$  als in argininhaltigem Medium (gemessen per ELISA). Die Hemmung der Zytokinproduktion findet wahrscheinlich auf Translationsebene statt, denn die Transkription (gemessen per Real-Time-PCR) ist vom Argininmangel unbeeinträchtigt.

Die Zytotoxizität der NK-Zellen wurde durch den intrazellulären Gehalt von Granzymen und Perforin, durch die Degranulierung zytotoxischer Granula (CD107a-Expression) und durch Messung der Tumorzelllyse (Chromfreisetzung) beurteilt. Dabei zeigte sich keine Beeinträchtigung der Degranulierung und Zytotoxizität der NK-Zellen in Abhängigkeit von der Argininverfügbarkeit in der Umgebung.

Bei der Reaktion der NK-Zellen auf den Aminosäuremangel wurde eine Beteiligung der GCN2-Kinase als intrazellulären Regulationsmechanismus von Stressreaktionen untersucht. Anders als für T-Zellen, die eine Phosphorylierung der GCN2-Kinase in argininfreier Umgebung zeigen, scheint dieser Mechanismus der Translationshemmung für NK-Zellen keine Rolle zu spielen, da in NK-Zellen keine Phosphorylierung der GCN2-Kinase nachgewiesen wurde.

NK-Zellen zeigen auch in ex-vivo Versuchen mit humaner Eitersuspension eine gehemmte Proliferation und IFN- $\gamma$ -Sekretion, wobei die in Eiter vorhandene Arginase den entscheidenden Faktor für diese Immunsuppression darstellt. Zusammenfassend zeigt die vorliegende Promotionsarbeit eine komplexe Regulation zahlreicher NK-Zellfunktionen durch die Aminosäure Arginin.

In chronischen Entzündungen oder Tumoren ist die Immunsuppression im adaptiven (T-Zellen) und innaten (NK-Zellen) Immunsystem durch Arginase unerwünscht. Durch die klinische Anwendung von Argininsupplementation und Arginasehemmung wird es eventuell in Zukunft möglich sein, bei Tumorerkrankungen eine ergänzende Therapie zur Stimulation der eigenen Immunabwehr zur Verfügung stellen zu können.