

Angelika Schmidt

Dr. med.

## **Genotyp- vis-a-vis Phänotypanalyse des CD2 / CD58 Systems bei gesunden Probanden**

Promotionsfach: Immunologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. S. Meuer

T-Lymphozyten sind eine wichtige Komponente des adaptiven Immunsystems. Dabei wird die Aktivierung von T-Zellen nach Antigenerkennung durch kostimulatorische Moleküle reguliert. Neben der CD80- / CD86-CD28 Interaktion stellt die Bindung von CD2 auf Lymphozyten und NK-Zellen mit CD58 auf Antigen-präsentierenden Zellen ein wichtiges kostimulatorisches Signal dar. T-Lymphozyten lassen sich auch in vitro antigenunabhängig durch monoklonale CD2-Antikörper aktivieren und zur Zytokinausschüttung und Proliferation stimulieren. Bei Untersuchungen an gesunden Probanden konnten starke interindividuelle Schwankungen der Proliferationsrate nach CD2-Antikörperstimulation beobachtet werden. Ein physiologisches Korrelat ist derzeit nicht bekannt. Durch Genome-wide association studies wurden bestimmte Varianten im Bereich der Gene für CD2 und CD58 bei Patienten mit Multiple Sklerose und Rheumatoider Arthritis gehäuft gefunden. Insbesondere der single nucleotid polymorphism (SNP) rs2300747 war bei Patienten mit Multiple Sklerose häufiger zu finden. Dieser SNP in der Nähe des CD58-Gens ist bei dem homozygoten Vorliegen von Guanin mit einer hohen Expression des CD58-Gens assoziiert – es besteht somit eine Genotyp-Phänotyp-Korrelation.

Um die Bedeutung der T-Zellaktivierung über das kostimulatorische CD2-Molekül besser zu verstehen, wurde in dieser Studie die individuelle Stimulierbarkeit auf monoklonale anti-CD2-Antikörper an 50 klinisch gesunden Probanden untersucht. Ausgehend von der unterschiedlichen Proliferationsrate wurde die Oberflächenexpression von CD2 und CD58, die Genexpression und Zytokinfreisetzung nach monoklonaler CD2-Stimulation untersucht. Anschließend wurde nach SNPs im Bereich der Gene für CD2, CD58 und immunologisch interessanten Molekülen gesucht, um einen möglichen Genotyp für diesen Phänotyp zu finden.

Das Proliferationsverhalten von ruhenden T-Lymphozyten auf anti-CD2-Stimulation zeigte bei den 50 Probanden eine starke interindividuelle Variabilität. Spender mit einer

Proliferationsrate oberhalb eines bestimmten Proliferationsniveaus wurden als high Responder bezeichnet, unterhalb des festgelegten Schwellenwertes als low Responder. Bei mehrmaligen Proliferations-Assays derselben Spender blieb die Proliferationsrate stabil. Es kann somit von einem konstanten Phänotyp ausgegangen werden. Unter den 50 Studienteilnehmern wurden 15 high und 35 low Responder gefunden. Die high und low Responder zeigten signifikante Unterschiede in der Genexpression und Zytokinfreisetzung von proinflammatorischen Molekülen wie beispielsweise IL-2, IL-6 und TNF $\alpha$ . High Responder zeigten dabei eine höhere Zytokinexpression sowohl auf der mRNA- wie auch auf der Proteinebene. Andererseits unterschieden sich die high und low Responder nicht in der Oberflächenexpression von CD2 und CD58. Höhere Proliferationsraten konnten somit nicht durch eine höhere Anzahl von Oberflächenmolekülen erklärt werden. Ebenso korrelierte die unterschiedliche Reaktivität nicht mit der relativen und absoluten Anzahl verschiedener Subpopulationen der mononukleären Zellen.

Es folgte eine Genotypisierung mittels GeneChip Array. Unterschiedliche Häufigkeiten von SNPs zwischen den high und low Respondern wurden gesucht. Dabei zeigte sich kein signifikanter Unterschied auf genomischer Ebene im Bereich der CD2- und CD58-Gene. Jedoch fiel ein Abschnitt auf Chromosom 7 mit 5 SNPs im Bereich der Gene für PEG10 und PPP1R9A und des Pseudogens (PG) für ribosomales Protein S3A (RPS3A) auf: High Responder waren in diesem Abschnitt häufiger homozygote Allelträger, low Responder heterozygot. Dieser Genotyp wurde als RPS3A-PG-Genotyp bezeichnet.

Ein Pseudogen ist nicht in der Lage ein Protein zu bilden, kann jedoch über mikroRNA mRNA regulieren und somit eine Vielzahl von Genen beeinflussen. Das kodierende Gen RPS3A auf Chromosom 4 hat einen engen funktionellen Bezug zum CD2-Molekül. Das entsprechende Protein kann an das CD2 Protein binden und Proliferation und Apoptose regulieren. Die Genexpression von RPS3A war mit dem RPS3A-PG-Genotyp assoziiert. Bei homozygoten Allelen im Bereich des RPS3A-Pseudogens wurde eine höhere RPS3A-Genexpression gemessen. Es ist zu vermuten, dass die homozygote Form des RPS3A-PG eine höhere Decoy-Aktivität besitzt und damit die Genexpression des RPS3A beeinflusst. Die unterschiedliche Reaktivität von T-Lymphozyten nach CD2-Stimulation könnte auf diese Weise erklärt werden (siehe schematische Zeichnung).

