

Anne-Christine Klotter
Dr. med.

Einfluss extrazellulärer Mutationen im Thrombopoietin-Rezeptor auf die subzelluläre Verteilung, die Oberflächenexprimierung und die Funktion des Rezeptors

Fach/Einrichtung: Kinderheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. med. Andreas Kulozik, PhD

Die Untersuchung der in dieser Arbeit vorgestellten c-Mpl Mutationen ergab klare Zusammenhänge zwischen der Glykosylierung, der subzellulären Verteilung und der Expressierung der Rezeptoren auf der Zelloberfläche.

Es konnte gezeigt werden, dass die vollständige Glykosylierung des c-Mpl WT Rezeptors und der Mutation F104S mit einer subzellulären Anreicherung im endoplasmatischen Retikulum und dem Golgi-Apparat, sowie der Expressierung der Rezeptoren auf der Zelloberfläche einhergeht. Mit der Expressierung auf der Zelloberfläche gehen zudem eine regelhafte Funktion der Rezeptoren und eine gute Liganden Clearance einher, was sich in Form von normwertigen Thrombozyten und TPO-Serumspiegeln zeigt.

Interessanterweise zeigten sich auch übereinstimmende Untersuchungsergebnisse für die in ihrer Funktion konträren c-Mpl Mutationen R102P und P106L. Beide Mutationen liegen unvollständig glykosyliert vor, zeigen eine vermehrte Anreicherung im endoplasmatischen Retikulum, jedoch keine Anreicherung des Rezeptors im Golgi-Apparat und keine Expressierung des Rezeptors auf der Zelloberfläche. Die TPO-Serumspiegel sind bei den Betroffenen beider Mutationen hoch, so dass von einer fehlenden oder nur minimalen Liganden Clearance auszugehen ist. Die Ergebnisse für die „loss-of-function“ Mutation R102P entsprechen damit den Erwartungen und unterstützen das initial zur Aktivierung des Rezeptors postulierte Modell. Demnach wäre davon auszugehen, dass der Rezeptor R102P nicht auf der Zelloberfläche exprimiert wird, daher nicht durch das im Serum zirkulierende TPO aktiviert werden kann und in Folge keine Funktion zeigt. Da kein Kontakt zwischen dem c-Mpl R102P und dem TPO entsteht, kommt es auch nicht zur Internalisierung und Degradierung und es resultieren stark erhöhte TPO-Serumspiegel.

Die Ergebnisse für die Mutation P106L passen jedoch nicht zum postulierten Modell, bei dem die Oberflächenexprimierung des Rezeptors als Grundvoraussetzung für

dessen Aktivierung gilt. Der Rezeptor P106L zeigt, wie der Rezeptor R102P, eine nur unvollständige Glykosylierung, keine Anreicherung im GA und keine Exprimierung auf der Zelloberfläche. Die Merkmalsträger der Mutation P106L zeigen ebenfalls stark erhöhte TPO-Serumspiegel. Trotz der zu den Ergebnissen der Mutation R102P vergleichbar klingenden Untersuchungsergebnisse, handelt es sich bei der Mutation P106L jedoch um eine „gain-of-function“ Mutation. Die Exprimierung des c-Mpl auf der Oberfläche scheint also, entgegen dem initialen Postulat, keine Grundvoraussetzung für die Funktionalität des Rezeptors zu sein.

Hieraus ergibt sich, dass es also noch einen alternativen, von der Oberflächenexpression unabhängigen Weg zur Rezeptoraktivierung geben muss. Ein möglicher Weg wäre, dass eine geringe Menge TPO auf anderem Weg in die Zelle internalisiert wird und ausreichend ist um den Rezeptor zu aktivieren. Eine zweite Möglichkeit wäre, dass der c-Mpl P106L in einer vom Liganden unabhängigen, konstant aktiven Form vorliegt. Hierbei handelt es sich jedoch um keine physiologische Funktion des Rezeptors, da ein regulierender Rückkopplungsmechanismus fehlt. Es lässt sich zusammenfassen, dass die Exprimierung des Rezeptors auf der Zelloberfläche zwar für die Clearance des TPO aus dem Serum notwendig ist, jedoch nicht wie erwartet für die Funktionalität des Rezeptors.

Im Fall der klinisch unauffälligen heterozygoten Mutationsträger der Mutation R102P ist nach den Ergebnissen dieser Arbeit am ehesten davon auszugehen, dass die in ca. halber Menge synthetisierten c-Mpl WT Monomere ausreichen, um ausreichend viele funktionsfähige c-Mpl WT Dimere zu bilden, um eine ausreichende Rezeptorfunktion zu gewährleisten.

In der Zusammenschau stützt diese Arbeit zu großen Teilen das propagierte Funktionsmodell der c-Mpl Aktivierung. Sie zeigt jedoch auch, dass es wie im Fall der c-Mpl Mutation P106L auch noch alternative Wege zur Rezeptoraktivierung geben muss.