



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Effects of antineutrophil cytoplasm autoantibodies on tissue factor expression and activity by HL-60 cells in vitro

Autor: Luis Felipe Flores-Suárez
Einrichtung: V. Medizinische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. F. J. van der Woude

EINLEITUNG: Wegener Granulomatose und Mikroskopische Polyangiitis sind ANCA-assoziierte Erkrankungen, die histopathologisch thrombotische Läsionen zeigen. Die Rolle von ANCA in der Hochregulation der "tissue factor procoagulant"-Aktivität und die in vitro Expression durch HL-60 Zellen wurde untersucht.

MATERIAL UND METHODEN: IgG von 8 Patienten mit WG und 8 Patienten mit MPA wurde isoliert. IgG von 7 Gesunden Spendern wurde für den Vergleich benutzt (normales IgG). HL-60 Zellen wurden mit IgG eines jeden Patienten der aufgeführten Gruppen alleine oder in Verbindung mit Lipopolysacchariden inkubiert. Medium-inkubierte Zellen wurden als Negativ-Kontrolle benutzt. Als Positiv-Kontrolle wurden Zellen mit einer Konzentration von 10 µg/ml eingesetzt. TF PCA wurde durch ein "one step clotting assay", totaler TF Antigen-Gehalt durch ELISA, TF Oberflächen-Antigen (surface antigen) durch Fluß-Zytometrie und TF mRNA-Gehalt durch semiquantitative RT-PCR bestimmt. Die statistische Analyse wurde mit einem gepaarten Student t-test durchgeführt. Ein *p* Wert kleiner 0.05 wurde als signifikant eingestuft.

RESULTATE: ANCA und normales IgG steigerten beide den TF PCA und Gesamt-Antigen-Gehalt im Vergleich zu Medium-inkubierten Zellen. P-ANCA IgG plus LPS zeigte einen höheren Anstieg im Vergleich zu den verbleibenden Konditionen. Diese Steigerung war höher als die durch unabhängig agierende Stimuli beobachtete (*p* Wert <.008 vs.P-ANCA IgG und <.016 vs LPS 1 µg/ml). Keine Unterschiede waren bei der Fluß-Zytometrie und bei der mRNA unter allen untersuchten Bedingungen zu bemerken.

DISKUSSION: Die beobachtete Diskrepanz zwischen TF PCA und den ELISA-Ergebnissen einerseits und den Ergebnissen der Fluß-Zytometrie und mRNA andererseits wurde in anderen Studien über TF in HL-60 Zellen beschrieben. Die Diskrepanz kann durch eine durch TF induzierte funktionelle Änderungen erklärt werden, welche ein Aktivierung ohne obligatorische quantitative Steigerung des an die Zellmembran gebundenen TF. Beide Faktoren (P-ANCA IgG und LPS) können synergistisch agieren und zu einer gesteigerten "clot generation" der HL-60 Zellen führen.

SCHLUßFOLGERUNG: P-ANCA IgG und LPS könnten gemeinsam zu einer gesteigerten TF-Aktivität der HL-60 Zellen führen. Damit unterstützen die gegenwärtigen Daten die Vermutung, daß dieses Phänomen in der Pathogenese von P-ANCA assoziierter Glomerulonephritis eine Rolle spielt.