



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

**Einfluss von Antineutrophilen Zytoplasmatischen Antikörpern auf die CD14-Spaltung durch Proteinase-3**

Autor: Anna-Isabelle Wille  
Institut / Klinik: V. Medizinische Klinik  
Doktorvater: Prof. Dr. F. J. van der Woude

ANCA-assoziierte Vaskulitiden gehören zu den Vaskulitiden der kleinen Gefäße, bei denen ein erhöhter Titer für antineutrophile zytoplasmatische Antikörper (ANCA) gemessen wird. Die Rolle dieser Antikörper für die Pathogenese der Vaskulitis ist Gegenstand momentaner Forschung. Die wichtigsten Zielantigene sind die Serinprotease Proteinase-3 für die zytoplasmatischen ANCA (C-ANCA) und Myeloperoxidase für die perinukleären ANCA (P-ANCA).

Für Proteinase-3 bestehen starke Homologien mit den Enzymen Cathepsin G und Leukozytenelastase, die beide den monozytären Oberflächenmarker CD14 enzymatisch spalten können. CD14 ist ein Rezeptor des angeborenen Immunsystems, der für die Antwort des Organismus auf bakterielle Bestandteile wie beispielsweise Lipopolysaccharide verantwortlich ist. Monozyten, die mit Lipopolysaccharide inkubiert werden, schütten tumor necrosis factor alpha ( $TNF\alpha$ ) aus. Diese Zytokin-freisetzung wird durch die enzymatische Reduktion von CD14 abgeschwächt.

Die vorliegende Arbeit untersucht, inwieweit auch die Serinprotease Proteinase-3 CD14 enzymatisch spalten kann, ob ANCA diese Spaltung hemmen können und wie sich eine Veränderung der CD14-Menge durch Proteinase-3 und ANCA auf die Zytokinausschüttung auswirkt.

Wir konnten durch Western Blot und FACS-Analysen erstmals zeigen, dass Proteinase-3 rekombinantes und zellgebundenes CD14 auf Monozyten enzymatisch spalten kann. Die Reduktion des zellgebundenen CD14 auf der Monozytenoberfläche durch Proteinase-3 führt im Vollblutsystem zu einer verminderten  $TNF\alpha$ -Freisetzung dieser Zellen nach LPS-Gabe und hat somit funktionelle Konsequenzen.

Weiterhin konnten wir für die von uns getesteten ANCA und monoklonalen anti-Proteinase-3 bzw. anti-Myeloperoxidase-Antikörper einen hemmenden Einfluss auf die CD14-Spaltung durch exogene Proteinase-3 ausschließen. Einige derselben ANCA verhindern allerdings die Spaltung des synthetischen Peptids Boc-Ala-ONP, was die Bedeutung des Substrates unterstreicht.

Überraschenderweise steigern die monoklonalen anti-Proteinase-3- und anti-Myeloperoxidase-Antikörper und eines der getesteten C-ANCA-positiven Patientenseren allerdings die LPS-Antwort im Vollblutsystem. Da die Antikörper den CD14-Abbau nicht beeinflussen, ist der Mechanismus dieser verstärkten  $TNF\alpha$ -Freisetzung zum gegenwärtigen Zeitpunkt unklar. Möglich wäre eine Stimulation der Monozyten durch ANCA, welche in die intrazelluläre Signalweiterleitung von LPS verändernd eingreifen.

Die Ergebnisse zeigen also, dass Proteinase-3 und einige ANCA einen gegenteiligen Einfluss auf die LPS-induzierte  $TNF\alpha$ -Freisetzung besitzen, der bei Proteinase-3 über eine CD14-Spaltung vermittelt wird und für ANCA noch unbekannt ist. Weiterhin legt diese Arbeit ein Patienten-abhängiges Verhalten der ANCA im Bezug auf die  $TNF\alpha$ -Ausschüttung nahe: Nur einige ANCA sind in der Lage, die Empfindlichkeit der Monozyten gegenüber LPS zu erhöhen, was Anlass dafür sein könnte, die ANCA funktionell weiter zu unterteilen.