

Isabelle Béatrice Ding

Dr. med.

***In vitro* und *in vivo* Untersuchungen zur Funktion des CD45-assoziierten Proteins LPAP (Lymphocyte Phosphatase Associated Protein)**

Geboren am 24.02.1974 in Heidelberg

Reifeprüfung am 12.5.1993 in Neckargemünd

Studiengang Fachrichtung Humanmedizin vom WS 1993/94 bis SS 2000

Physikum am 24.8.1995 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg und Padua, Italien

Praktisches Jahr in New York, NY, USA und Heidelberg

Staatsexamen am 27.11.2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Immunologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Burkhard Schraven

LPAP ist ein 29-32 kD schweres Phosphoprotein, das ausschließlich in Lymphozyten exprimiert wird. Es ist über die Transmembrandomäne mit der Transmembran-Tyrosinphosphatase CD45 assoziiert. In Abwesenheit von CD45 wird LPAP in regulären Mengen synthetisiert, aber danach rasch degradiert. Abhängig vom Aktivierungszustand der Zelle werden in humanen T-Zellen vier verschiedene Phosphorylierungsformen von LPAP exprimiert. Die Bedeutung dieser Phosphoisomere und die Funktion von LPAP sind bis dato nicht bekannt.

- 1.) Die *in vivo* Analyse der LPAP Mutanten im Bereich des C-terminalen GGSAE-Motivs bestätigt die Ergebnisse der *in vitro* Vorarbeiten in unserem Labor, erlaubt aber keine Aussage darüber, ob der Verlust der Bindungsaffinität des N-terminalen anti-LPAP Antiserums #82 nach Mutation des GGSAE-Motivs im C-Terminus auf eine Konformationsänderung im N-Terminus zurückzuführen ist.
- 2.) Die hier vorgelegten Daten über die LPAP-defizienten Mäuse zeigen, dass LPAP keinen bedeutsamen Einfluß auf die *in vitro* Lymphozytenproliferation nach Stimulation des T-Zellrezeptors oder mitogener Stimulation hat. Darüber hinaus gab es in den LPAP negativen Lymphozyten keinen Anhalt für eine Rolle von LPAP in der Assoziation von CD45 und der Tyrosinkinase p56<sup>lck</sup>. Da die LPAP-defizienten Lymphozyten eine Reduktion der CD45 Zelloberflächenexpression von 30% ( $\pm 3\%$ ) und einen vergleichbaren Verlust an CD45 Phosphatase-Aktivität nach Immunpräzipitation von CD45 aus

Zellsaten aufweisen, könnte LPAP eine stabilisierende Rolle in Bezug auf die Expression der Tyrosinphosphatase zukommen. Die anatomische Inspektion der LPAP Knock-out Mäuse offenbarte diskret vergrößerte Lymphknoten. Weder in der durchflußzytometrischen Analyse noch bei der histopathologischen Untersuchung konnten zelluläre oder strukturelle Abnormitäten gefunden werden, die die Hyperzellularität der Lymphknoten erklären konnten. Nach der Vollendung der Rückkreuzung auf den genetischen Hintergrund des C57Bl/6 Mäusestammes war die Lymphknotenhyperplasie nicht mehr signifikant nachweisbar. Bei vier älteren LPAP-defizienten Mäusen wurde ein mononukleäres Infiltrat der Leber und des Pankreas beobachtet, das bei drei weiteren Knock-out Mäusen und allen Wildtyp-Mäusen nicht gefunden wurde. Die Ätiologie des Infiltrates ist nicht bekannt.

- 3.) Die CD45-vermittelte Apoptose wurde mit einem Apoptose-induzierenden monoklonalen anti-CD45-Antikörper untersucht. LPAP-defiziente Thymozyten zeigten im Vergleich zu LPAP positiven Zellen nach Inkubation mit dem anti-CD45-Antikörper einen erhöhten Anteil an apoptotischen Zellen. Ob LPAP als anti-apoptotisches Molekül eine Rolle in der Feinregulation der CD45-getriggerten Apoptose übernimmt, oder ob die erhöhte Apoptoserate der LPAP negativen Zellen auf die verminderte CD45 Expression in diesen Zellen zurückzuführen ist, kann anhand der vorliegenden Daten nicht sicher beurteilt werden.