

Andrea Barbara Braun
Dr. med.

Ektope lymphatische Strukturen in der Synovialmembran von Patienten mit rheumatoider Arthritis

Geboren am 15.01.1976 in Heidelberg
Reifeprüfung am 27.06.1995 in Neckarbischofsheim
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1995/96 bis WS 2002/03
Physikum am 11.09.1997 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Bern (Schweiz), Chapel Hill (North Carolina, USA), New Orleans (Louisiana, USA), Heidelberg (Deutschland)
Staatsexamen am 19.11.2003 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktormutter: Priv.-Doz. Dr. med. Cornelia M. Weyand

Patienten, die an rheumatoider Arthritis leiden, zeigen ektope lymphatische Strukturen in den betroffenen Gelenken. Die Mehrzahl der Patienten weist ein scheinbar diffuses Infiltrat aus Entzündungszellen auf. In anderen bilden sich T-Zell – B-Zell –Aggregate mit IDCs (interdigitierende dendritische Zellen), aber ohne FDCs (follikuläre dendritische Zellen). Eine dritte Gruppe von Patienten dagegen bildet echte lymphatische Sekundärfollikel mit einer Keimzentrumsreaktion und FDC-Netzwerken. Den Patienten mit T-B-Zell – Aggregaten fehlen diese FDC-Netzwerke, und die IgD⁺ - B – Zellen sind in ihnen diffus über die Aggregate verteilt, im Gegensatz zu den Geweben mit Keimzentren, wo sie in der Mantelzone anzutreffen sind. Auch finden sich nur selten proliferierende B-Zellen in den Aggregaten. In sekundären lymphatischen Organen konnte bisher noch keine Struktur identifiziert werden, die diesen synovialen T-Zell – B-Zell – Aggregaten nahekommt. Der jeweilige Entzündungstyp ist in einem bestimmten Patienten in verschiedenen Gelenken und über Jahre hinweg konstant. Welche molekularen Mechanismen an dieser ektopen lymphatischen Neogenese beteiligt sind und welche Faktoren einen Patienten zu ihrer Bildung prädisponieren, ist weitgehend ungeklärt. In der in dieser Dissertation beschriebenen Serie von 64 synovialen Gewebeproben zeigten 56% der Patienten ein diffuses Infiltrat. Keimzentren fanden sich in 24% der Patienten, und 20% der Patienten bildeten T-B-Zell – Aggregate. FDCs traten in dieser Studie ausschließlich in Patienten auf, die in ihrem Synovialgewebe Keimzentren formten. Dies legt nahe, daß die Rekrutierung oder in situ Reifung von FDCs einen entscheidenden Faktor für die Bildung von Keimzentren in der Synovialmembran darstellt. In keiner Gewebeprobe konnten Primärfollikel gefunden werden, was die Rolle der Antigenerkennung bei der ektopen lymphatischen Neubildung von Keimzentren unterstreicht.

Mittels einer multivariaten logistischen Regressionsanalyse von Gewebszytokinen und – chemokinen wurden zwei Parameter identifiziert, die zuverlässig die Rekrutierung von FDCs und die Bildung von Keimzentren in der Synovialis voraussagen konnten. Dabei handelte es sich um das Zytokin Lymphotoxin-beta (LT-

β) sowie das B-Zellen rekrutierende Chemokin BLC/CXCL13. Diese beiden Mediatoren erwiesen sich dabei als voneinander unabhängige Variablen, die sich teilweise im Prozeß der Keimzentribildung gegenseitig ersetzen konnten.

Durch eine rekursive Partitionierung konnte ein Schwellenwert für die Anzahl der in situ – Transkripte von LT-β und BLC/CXCL13 bestimmt werden. Dieses Modell zeigte einen hohen negativen (95.6%), aber nur mäßig ausgeprägten positiven prädiktiven Wert (68.4%), wenn beide Parameter über dem Schwellenwert lagen. Dies legt den Schluß nahe, daß LT-β und BLC/CXCL13 notwendig, aber nicht ausreichend zur Follikelbildung in der Synovialis sind. Erstaunlicherweise war LT-α in diesem Modell kein unabhängiger Faktor, auch wenn dieses Zytokin signifikant höher im follikulären Subtyp exprimiert wurde als in den beiden anderen Entzündungsformen. In der diffusen Synovitis fand sich so gut wie gar kein LT-α. Da LT-α eine abhängige Variable ist, liegt nahe, daß seine Produktion ein sekundäres Ereignis in der Entstehung eines Keimzentrums darstellt.

Die Transkription des LT-βR war in allen Geweben vergleichbar. Dies weist darauf hin, daß die Zielzellen für LT-α₁β₂ überall in gleichem Ausmaß vorhanden waren.

Die Tatsache daß einige Gewebe die Zytokinkriterien des Modells erfüllten, aber keine Keimzentren ausbildeten, deutet an, daß die Anwesenheit von BLC/CXCL13 und LT-β nicht ausreicht, um Keimzentren zu formen. In einigen Patienten konnten hohe Spiegel des einen Mediators die niedrigen Spiegel des anderen kompensieren. Wenn jedoch beide Marker fehlten, wurden nie Keimzentren gefunden.

Für das Chemokin SLC/CCL21, das vorwiegend T-Zellen rekrutiert, bestand ein Trend dazu, eine unabhängige Variable in diesem Modell zu sein, der allerdings nur im univariaten Modell statistische Signifikanz erreichte.

Die in allen drei Gewebstypen vergleichbare Produktion von MCP-1/CCL2 weist auf eine äquivalente entzündliche Aktivität in verschiedenen Unterformen der RA-Synovitis hin. Auch scheint die Funktion von dendritischen Zellen ähnlich zu sein, denn es ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied in der Produktion von DC-CK-1/CCL18 zwischen den verschiedenen Gruppen.

In histopathologischen Gewebsschnitten wurde das LT-β – Protein auf B-Zellen in einem Teil der Zellen in der Mantelzone der Follikel sowie im Keimzentrum selbst entdeckt, aber auch auf CD4-positiven T-Zellen im Follikel. BLC/CXCL13 stammte aus FDCs in den zentralen Anteilen der Follikeln, der größte Anteil dieses Chemokins wurde allerdings in Endothelzellen und Synoviozyten gefunden. Dies weist auf eine mögliche Rolle der Kommunikation zwischen ortsansässigen Zellen der Synovialmembran und infiltrierenden Lymphozyten in der Regulierung der extranodalen Neubildung von lymphatischen Organen hin.

Um diese Prozesse näher zu beleuchten, wurden in Zellkultur gehaltene Synoviozyten mit rekombinantem LT-α₁β₂ stimuliert. Dadurch konnten die Chemokine IL-8/CXCL8, RANTES/CCL5, IL-1α und IL-1β sowie MCP-1/CCL2, IL-6 und GM-CSF induziert werden. IL-8/CXCL8 rekrutiert neutrophile Granulozyten in der Frühphase der RA-Synovitis, während MCP-1/CCL2 und RANTES/CCL5 Monozyten und T-Zellen in der Spätphase ins Gelenk locken. Erhöhte Spiegel der Metalloproteasen MMP-1 und MMP-3 tragen zur Gewebsdestruktion bei, die auch durch eine gesteigerte Produktion des Inhibitors TIMP-1 nicht neutralisiert werden kann. Durch eine Induktion der Zelladhäsionsproteine ICAM-1 und VCAM-1 wird die Interaktion von Lymphozyten und residenten Zellen erleichtert. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß der LT-βR

in den Synoviozyten eine biologische Funktion erfüllt und bei der Chemotaxis von Entzündungszellen in die Synovialis eine Rolle spielt. $LT-\alpha_1\beta_2$ scheint dabei kein undifferenzierter Induktor von Proteinen zu sein, denn die Expression der konstitutionell exprimierten Proteine $LT-\beta R$ und $SDF-1\alpha/CXCL12$ konnte nicht erhöht werden. Bemerkenswert ist, daß die Synthese von $BLC/CXCL13$ in Synoviozyten weder durch $LT-\alpha_1\beta_2$, $TNF-\alpha$ noch durch eine Kombination beider Zytokine induziert werden konnte. Ebenso wenig gelang die Induktion der für FDCs spezifischen Proteine $CD21L$ und $CD23$.

Zusammenfassend gesagt sind die Ergebnisse der dargestellten Studie mit einem hierarchischen Modell der synovialen Keimzentrumbildung vereinbar, wobei $BLC/CXCL13$ und $LT-\beta$ frühe und wahrscheinlich kausative Faktoren darstellen. FDCs sind der einzige Zelltyp, der nur in Synovialgeweben mit Keimzentren gefunden wurde. Dies weist auf eine kontrollierende Funktion der FDCs hin. Damit konnte gezeigt werden, daß die ektopische Neubildung lymphatischer Mikrostrukturen zumindest teilweise dieselben Signalmechanismen verwendet, die bei der Bildung lymphatischer Organe von Bedeutung sind.