

Christoph Stober

Dr. med.

L-Plastin, ein neues Zielprotein der immunsuppressiven Therapie

Geboren am 06.01.1977 in Karlsruhe

Staatsexamen am 23.11.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Immunologie

Doktorvater: Frau Prof. Dr. med. Y. Samstag

Für die vollständige Aktivierung von T-Lymphozyten werden zwei Signale benötigt: zum einen ein antigenspezifisches Signal über den T-Zellrezeptor (TZR) und zum anderen sogenannte kostimulatorische Signale über akzessorische Rezeptoren wie z.B. CD2 oder CD28. Eine isolierte TZR/MHC-Interaktion ohne kostimulatorische Signale macht die T-Zelle unreaktiv für weitere Aktivierung, d.h. sie wird anerg oder leitet den programmierten Zelltod (Apoptose) ein. Die Verwendung von Immunsuppressiva hat die Transplantation von Organen ermöglicht. Sie unterdrücken hauptsächlich die akute-, nicht aber die chronische Abstoßungsreaktion. Das erhöhte Tumorrisiko und die Infektionsgefahr als Folge der Immunsuppression, sowie weitere Nebenwirkungen der Medikamente machen Verbesserungen unentbehrlich. Dabei verspricht vor allem die Induktion einer Transplantat-spezifischen Immuntoleranz Erfolg, die es ermöglichen könnte, das funktionelle Programm der Abwehrzellen so zu verändern, dass ein transplantiertes Organ wie ein eigenes toleriert wird. Da nach der Mehrsignalregel der Lymphozytenaktivierung die Abwesenheit von Sekundärsignalen zur Anergie führt, ist es denkbar, durch gezielte medikamentöse Intervention das kostimulatorische Sekundärsignal zu unterbinden und dadurch eine selektive Transplantattoleranz zu erzeugen. Die Blockade nur eines Korezeptors, z.B. mit Hilfe von anti-CD28-mAK, stellt eine insuffiziente Maßnahme dar, da die intrazellulären Signalwege zumindest teilweise redundant sind und daher immer noch über andere akzessorische Rezeptoren initiiert werden können. Daher könnten Signalmoleküle, die über verschiedene akzessorische Rezeptoren aktiviert werden, als neue Zielstrukturen für die therapeutische Immunmodulation genutzt werden. Unsere Arbeitsgruppe fand heraus, dass zwei Aktin-bindende Proteine selektiv nach Kostimulation modifiziert werden: Cofilin und L-Plastin. Für L-Plastin konnte gezeigt werden, dass sowohl die Kostimulation humaner T-Zellen

über die Rezeptoren CD2, CD28, CD4 oder CD8 als auch die Stimulation über CD2 ("alternativer Weg"), nicht aber die Aktivierung über den TZR/CD3-Komplex alleine, zur Phosphorylierung von L-Plastin führt.

Das 67 kD schwere L-Plastin gehört zur Fimbrin-Familie, einem Mitglied der Calponin-Homologie Superfamilie. Bisher sind drei Plastin-Isoformen identifiziert: L-Plastin wird ausschließlich in Leukozyten exprimiert und ist die einzige Form, die phosphoryliert werden kann. Neben zwei Aktinbindungsstellen enthält L-Plastin zwei Kalzium-Bindungsdomänen und eine potentielle Calmodulin-Bindungsstelle. Die Funktion von L-Plastin wird wahrscheinlich über reversible Phosphorylierung reguliert. Es konnten zwei potentielle Phosphorylierungsstellen identifiziert werden: Serin-5 und Serin-7. Diese Aminosäuren weisen Konsensusstellen für Proteinkinase A (PKA), Proteinkinase C (PKC) und Proteinkinase CKII auf. Sowohl der Signaltransduktionsweg, der zur L-Plastin-Phosphorylierung führt, als auch die Entscheidung welcher Serinrest phosphoryliert wird, scheinen von der Art des Stimulus und vom untersuchten Zelltyp abhängig zu sein.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob die Phosphorylierung von L-Plastin bei der Aktivierung humaner T-Lymphozyten durch die Immunsuppressiva Mycophenolsäure, Leflunomid, Azathioprin, Cyclosporin A, FK506, Rapamycin und Dexamethason gehemmt wird. Zusätzlich wurde analysiert, ob es bei CD2-, CD3xCD28- und CD3xCD2-Stimulation Unterschiede bzgl. der Regulation von L-Plastin gibt. Außerdem wurden der Signalweg und die in die L-Plastin-Phosphorylierung involvierten Kinasen mit Hilfe spezifischer Inhibitoren näher charakterisiert. Es konnte gezeigt werden, dass das Immunsuppressivum Dexamethason die durch CD2-, CD3xCD28- und CD3xCD2-Stimulation induzierte L-Plastin-Phosphorylierung dosisabhängig inhibiert. Alle anderen Immunsuppressiva beeinflussten die L-Plastin-Phosphorylierung nicht signifikant. Die Versuche mit Inhibitoren von Calmodulin, der PKC und der PI3-Kinase konnten die Beteiligung dieser Signalmoleküle an der Regulation der L-Plastin-Phosphorylierung nachweisen.