

Prisca Sturm
Dr. med.

Expression und funktionelle Charakterisierung des aktivierenden NK-Zell-Rezeptors NKp30 bei Patienten mit Granulomatose mit Polyangiitis

Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum
Doktormutter: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Adelheid Cerwenka

Die Granulomatose mit Polyangiitis (GPA) ist eine potentiell letal verlaufende systemisch-entzündliche Erkrankung weitgehend ungeklärter Ätiologie und Pathogenese. Biomarker, die Aktivität und Verlauf der Erkrankung für eine risikoadaptierte Steuerung der Intensität und Dauer der Immunsuppression zuverlässig anzeigen, wurden bisher nicht identifiziert. Über Natürliche Killer (NK)-Zellen in der GPA ist bisher nur wenig bekannt. Zuletzt wurde von meiner Arbeitsgruppe gezeigt, dass Patienten mit einer inaktiven GPA signifikant mehr periphere NK-Zell-Zahlen aufweisen. Die periphere NK-Zell-Zahl korrelierte negativ mit der Krankheitsaktivität und positiv mit der Dauer der Remission. Wir vermuten daher eine immunregulatorische Rolle von NK-Zellen in der GPA. Die NK-Zell-Funktion wird dabei über ein Gleichgewicht von aktivierenden und inhibierenden Oberflächenrezeptoren reguliert. Der aktivierende NK-Zell-Rezeptor NKp30 (NCR3, Natürlicher Zytotoxizitätsrezeptor 3) ist ein wichtiger Vermittler der NK-Zell-abhängigen Zytotoxizität. Er besitzt u.a. durch Wechselwirkung mit dendritischen Zellen immunregulatorische Funktion und kann an der Regulation von Immunzellen beteiligt sein, welche bei der GPA eine pathogenetische Rolle spielen. Bei einer anderen systemisch-entzündlichen Erkrankung, dem Sjögren-Syndrom, wurde NKp30 bereits eine pathogenetische Rolle zugeschrieben. NKp30 wird außerdem in immunstimulierenden und immunsupprimierenden Isoformen exprimiert.

Das Ziel dieser Arbeit war es, erstmals die Expression von NKp30 auf NK-Zellen in GPA-Patienten und Normalspendern (NS) zu bestimmen, funktionell zu charakterisieren und mit klinischen Daten zu korrelieren. Die in der Literatur beschriebene Variabilität bei NS, insbesondere die Häufigkeit des sogenannten bimodalen Oberflächenexpressionsmusters (Phänotyps), sollte außerdem genauer definiert werden. Bis zuletzt lagen in der Literatur keine Daten zur prozentualen Häufigkeit des bimodalen Phänotyps vor. Die in dieser Arbeit gewonnenen Daten sollten einen wichtigen Beitrag für das Verständnis der NK-Zell-Funktion in der GPA leisten. Hierzu wurden die peripheren mononukleären Zellen von 29 GPA-Patienten und 29 NS derselben Kohorte wie in der oben genannten Studie isoliert und durchflusszytometrisch analysiert.

Die NKp30-Oberflächenexpressionsstärke unterschied sich in GPA-Patienten statistisch nicht signifikant von NS, sondern variierte sowohl innerhalb der NS als auch GPA-Patienten. Bei NS lag in 10 % der Fälle ein bimodaler Phänotyp vor. In GPA-Patienten wurde dieser hingegen doppelt so häufig (21 %) und aufgrund vorherrschender NCR^{dull}-NK-Zellen gegenüber den NCR^{bright}-NK-Zellen in ausgeprägterer Form gefunden. Der interpersonellen Variabilität von NKp30 in Expression und Phänotyp lag bei durchgehender Dominanz der Isoform NKp30b in NS und GPA-Patienten keine unterschiedlich starke Expression verschiedener Isoformen zugrunde. Die Expressionsstärke von NKp30 konnte jedoch durch Stimulierung mit Interleukin-2 *ex vivo* hochreguliert werden.

Die Variabilität von NKp30 in Expression und Phänotyp wurde in bisherigen Studien selten berücksichtigt. Anhand von CD107a-Degranulierungs-Assays wurde jedoch in dieser Arbeit gezeigt, dass die Degranulierungsaktivität der NKp30-positiven NK-Zellen nicht nur von der

Expressionsstärke des Liganden B7-H6, sondern auch von der des Rezeptors NKp30 abhängig ist. Die unterschiedliche NKp30-Expressionsstärke erwies sich somit *ex vivo* als funktionell relevant. Die Variabilität der NKp30-Expression sollte daher in zukünftigen NKp30-Studien beachtet werden.

Die NKp30-Expression in GPA-Patienten wurde schließlich auf mögliche Zusammenhänge mit klinischen Daten wie der Krankheitsaktivität überprüft. Die NKp30-Expressionsstärke korrelierte negativ mit der Höhe des C-reaktiven Proteins (CRP) sowie schwach negativ mit der Höhe des Anti-PR3-Titers. Sie war außerdem bei aktiven Patienten tendenziell niedriger im Vergleich zu Patienten in Remission. Innerhalb Patienten mit rezidivierender GPA zeigte sich die NKp30-Expression umgekehrt abhängig von der Anzahl der Schübe. Des Weiteren nahm sie in drei Patienten unter erfolgreicher Induktionstherapie zu. Die unterschiedliche NKp30-Expression bei normwertigem und erhöhtem CRP war nicht gleichzeitig mit verschiedenen Immunsuppressiva assoziiert; ein potentieller Einfluss der Medikation konnte dennoch nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Der bimodale Phänotyp in GPA-Patienten war mit einer erhöhten Anzahl an Rezidiven sowie Gelenk- und Hautbeteiligung verbunden.

Die hier erzielten Ergebnisse weisen zum ersten Mal in der Literatur darauf hin, dass eine Assoziation zwischen GPA-Aktivität und der NKp30-Expressionsstärke bzw. zwischen einer GPA-Manifestation und dem NKp30-Phänotyp besteht.

Zusammenfassend zeigen die in dieser Arbeit beschriebenen Daten, dass die NKp30-Expressionsstärke variabel ist, eine funktionelle Auswirkung auf die NK-Zell-Zytotoxizität besitzt, und in der GPA mit der klinischen Aktivität bzw. dem Auftreten von Rezidiven verbunden sein könnte. Veränderungen an NK-Zellen und deren Rezeptoren könnten somit Teil der komplexen Immundysregulation in der GPA sein, deren Auswirkung jedoch weiter unklar ist.