

Hannah Franziska Störch

Dr. med.

Bidirektionale Interaktion von B-Lymphozyten und synovialen Fibroblasten im Kontext der rheumatoiden Arthritis

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Hanns-Martin Lorenz

Die Interaktion verschiedener Immunzellen in den Gelenken von Patienten mit rheumatoider Arthritis ist komplex. Viele Mechanismen der RA-Pathogenese werden bereits gut verstanden, die genauen Ursachen, die zu Entstehung der RA führen, sind allerdings immer noch unklar. Dass synoviale Fibroblasten eine zentrale Rolle in diesem Kontext spielen, ist mittlerweile unbestritten. Insbesondere ihre Interaktion mit T-Zellen wurde ausführlich untersucht. Seit einigen Jahren wird aber auch zunehmend die Bedeutung der B-Lymphozyten in der RA-Pathogenese diskutiert. Ziel der Doktorarbeit war es deshalb, diese noch relativ unerforschte Interaktion zwischen FLSs und B-Zellen genauer zu analysieren.

Dazu wurden mittels Enzymverdau FLSs aus dem Synovialgewebe von Arthrose (OA)-Patienten gewonnen. Diese FLSs nicht-synovialen Ursprungs wurden als „normale“, „non-RA“-FLSs verwendet, da sie, wie in zahlreichen Studien gezeigt, die entzündlichen und aggressiven Eigenschaften der RA-FLSs nicht teilen. Die B-Zellen wurden mithilfe der Dichtegradientenzentrifugation und magnetischer Zellseparation aus dem Blut gesunder Probanden isoliert und mit den FLS in speziellen Kulturmedien, teils unter Anwesenheit verschiedener Faktoren (Antikörper, Zytokine, Inhibitoren) kokultiviert. Um die B-Zellen zu aktivieren wurden sie gleichzeitig durch Kreuzvernetzung des B-Zell-Rezeptors (mittels SAC oder anti-IgM/IgG-Antikörper) unter Zugabe von Interleukin-2 stimuliert.

Nach unterschiedlichen Inkubationszeiten wurden beide Zellpopulationen auf verschiedene Parameter untersucht. Veränderungen der Expression von Oberflächenmarkern wurden mithilfe fluoreszenzmarkierter Antikörper im Durchflusszytometer (FACScan) gemessen. Änderungen in der Produktion von Zytokinen/Chemokinen und anderen Proteinen, wie Matrix-Metalloproteinasen, wurden durch das Messen der Zellkulturüberstände im ELISA bestimmt oder durch intrazelluläre Färbungen mittels spezifischer Antikörper im

Durchflusszytometer. Das Wachstum der B-Zellen konnte ebenfalls durchflusszytometrisch durch Markierung mit speziellem Membranfarbstoff ermittelt werden.

Es zeigten sich folgende Ergebnisse:

Die B-Lymphozyten induzierten bei den FLSs im Vergleich zu einzeln kultivierten FLSs eine bis über das 100fache gesteigerte Synthese der proinflammatorischen Zytokine IL6 und IL8 sowie der Matrix-Metalloprotease MMP-3. Umgekehrt reduzierte sich die Produktion der B-Zell-spezifischen Zytokine IL1 β - und TNF α in Gegenwart der FLSs um mehr als die Hälfte. Alle diese Effekte waren Zellkontakt-unabhängig. Entscheidend war hierbei, dass sich die B-Zellen während der dreitägigen Inkubationsdauer in einem aktivierten Zustand befanden. In Langzeitkulturen, die zwei (IL6, IL8) bzw. sechs (MMP3) Wochen inkubiert wurden, behielten die FLSs auch nach Entfernung der B-Zellen die beschriebenen durch B-Zellen induzierten Eigenschaften für einige Tage (IL6, IL8) bis Wochen (MMP3) bei. In Experimenten mit verschiedenen blockierenden Antikörpern konnte außerdem gezeigt werden, dass diese Erhöhung der IL6-, IL8- und MMP3-Produktion bei den FLSs u.a. durch das von den B-Lymphozyten produzierte IL1 β und TNF α getriggert wurde. Darüber hinaus zeigte sich mittels Verwendung spezieller Inhibitoren, dass über COX2 und TGF β verlaufende Signalwege eine Rolle bei der Interaktion von B-Zellen und FLSs spielen.

Auch das Proliferationsverhalten der B-Zellen änderte sich in Gegenwart der FLSs: Sie proliferierten deutlich weniger als in den vergleichbaren Einzelkulturen. Gleiches galt für T-Lymphozyten, die mit FLSs inkubiert wurden. Dabei zeigte sich die stärkste Proliferationshemmung in Gegenwart von B-FLS-Kokulturen. Alle beschriebenen Effekte auf das Proliferationsverhalten waren Zellkontakt-unabhängig.

Sowohl B-Zellen als auch FLSs änderten außerdem die Expression wichtiger Oberflächenmarker in den Kokulturen: B-Zellen exprimierten verstärkt CD86 und B7H1 und weniger stark CD25. FLSs erhöhten ihre CD54-Expression.

Insgesamt deuten die Ergebnisse darauf hin, dass die B-Lymphozyten in der Lage sind FLSs nicht-rheumatischen Ursprungs (OA-FLSs) in Richtung eines entzündlichen und aggressiven Phänotyps zu beeinflussen. Dieser Phänotyp triggert zum einen durch die deutlich erhöhte Produktion der proinflammatorischen Zytokine IL6- und IL8 das entzündliche Milieu im Synovium des Gelenks, zum anderen ist er wahrscheinlich in der Lage durch die verstärkte MMP3-Sekretion die Knorpelzerstörung wesentlich voranzutreiben. Dieser Mechanismus der B-FLS-Interaktion könnte also eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Chronifizierung der RA spielen. Die genauen Interaktionsmechanismen weiter zu charakterisieren und die gezeigten Eigenschaften der FLSs auch in in-vivo-Experimenten nachzuweisen, ist Aufgabe

zukünftiger Forschungsprojekte. Diese Doktorarbeit legt dazu wichtige Grundlagen und bietet Impulse für die weitere Erforschung der B-FLS-Interaktion im Kontext der rheumatoiden Arthritis.