

Frank Yi-Tao Huang
Dr. med.

Emperipolesis: eine Zell-in-Zell Interaktion zwischen neutrophilen Granulozyten und Megakaryozyten

Fach: Orthopädie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Babak Moradi

Emperipolesis ist eine Zell-in-Zell Interaktion zwischen neutrophilen Granulozyten und Megakaryozyten, die hauptsächlich im Knochenmark stattfindet. Neutrophile Granulozyten dringen in Megakaryozyten ein, wandern in ihnen umher und verlassen sie wieder, wobei beide Zellen vollständig intakt aus dieser Interaktion hervorgehen. In gesunden Menschen findet Emperipolesis in 3–7 % aller Megakaryozyten statt. In pathologischen Zuständen wie Entzündungen, Blutungsereignissen und myeloproliferativen Erkrankungen nimmt die Häufigkeit deutlich zu und erreicht bis zu 65 %. Ein Zusammenhang mit soliden Tumoren, akuten Leukämien, Alterungsprozessen und Bestrahlungen wird ebenfalls vermutet. Das Auftreten in so unterschiedlichen Kontexten lässt vermuten, dass es sich bei Emperipolesis um eine heterogene Interaktion handelt, die verschiedene Formen umfasst.

Es wird angenommen, dass Emperipolesis eine transmegakaryozytäre Passage für neutrophile Granulozyten darstellt, die aus dem Knochenmark in die Zirkulation migrieren. Neutrophile Granulozyten und Megakaryozyten können im Rahmen von Emperipolesis gegenseitig Membranen austauschen. Diese können anschließend auf Thrombozyten nachgewiesen werden. Zudem führt Emperipolesis sowohl *in vitro* als auch *in vivo* zu einer verstärkten Thrombopoese in Megakaryozyten. Darüber hinaus ist nur wenig über Emperipolesis bekannt und es ist unklar, warum neutrophile Granulozyten in Megakaryozyten eindringen und welche Funktion diese Interaktion erfüllt. Ein besseres Verständnis der Zellbiologie dieser Interaktion ist die Voraussetzung für die Beantwortung dieser Fragen.

Die zentrale Hypothese der vorliegenden Arbeit ist, dass Emperipolesis eine heterogene Interaktion mit unterschiedlichen zeitlichen Abläufen und intramegakaryozytären Lokalisationen neutrophiler Granulozyten ist. Darüber hinaus wurde die Hypothese aufgestellt, dass Emperipolesis die Funktion neutrophiler Granulozyten beeinflussen kann. Um diese Hypothesen zu überprüfen, wurde Emperipolesis im K/BxN Serum-Arthritis Modell, einem Mausmodell für experimentelle Arthritis untersucht. Dabei zeigte sich, dass eine Arthritis mit einer Verdopplung der Emperipolesishäufigkeit einhergeht. Immunfluoreszenzmikroskopische Aufnahmen offenbarten, dass Emperipolesis nahezu ausschließlich in perisinusoidal lokalisierten Megakaryozyten auftritt, was die Annahme stützt, dass Emperipolesis die Mobilisierung neutrophiler Granulozyten aus dem Knochenmark erleichtert. In Übereinstimmung damit wurde gezeigt, dass Emperipolesis bevorzugt in großen, reifen Megakaryozyten auftritt, jenen Zellen, die *in vivo* Membranprotrusionen ausbilden, die die Endothelzellschicht penetrieren. In der Lebendzellmikroskopie zeigten sich divergierende zeitliche Abläufe. Die meisten neutrophilen Granulozyten benötigten für die transmegakaryozytäre Passage entweder weniger als zehn Minuten oder mehr als eine Stunde.

Diese beiden Formen wurden als schnelle und langsame Emperipolesis definiert. Es wurde festgestellt, dass sich neutrophile Granulozyten in beiden Formen nicht nur in ihrer Transitzeit, sondern auch in ihrer Morphologie und Lokalisation unterscheiden. In der Elektronenmikroskopie wurde festgestellt, dass neutrophile Granulozyten sich bevorzugt im Emperisom, im Demarkationsmembransystem oder im Zytoplasma von Megakaryozyten aufhalten. Das Emperisom ist eine Vakuole, die neutrophile Granulozyten unmittelbar nach ihrer Internalisierung umgibt und das Demarkationsmembransystem ist ein Membrannetzwerk in Megakaryozyten, das nahezu das gesamte Zytoplasma ausfüllt und Membranen für die Thrombopoese bereitstellt. Zudem wurden Übergangsstadien identifiziert, die den Übergang neutrophiler Granulozyten vom Emperisom in das Demarkationsmembransystem oder in das Zytoplasma zeigen. Es wurde darüber hinaus gezeigt, dass neutrophile Granulozyten beim Austritt aus Megakaryozyten Membranausläufer, sogenannte Megakaryozyten Trails, ausbilden. Diese könnten erklären, wie neutrophile Granulozyten aus Megakaryozyten austreten, ohne die Integrität der Megakaryozytenmembran zu beschädigen. Abschließend wurde gezeigt, dass Emperipolesis die Fähigkeit neutrophiler Granulozyten Pathogene zu phagozytieren erhöht.

Zusammenfassend wurde Emperipolesis in dieser Arbeit im Mausmodell und in *in vitro* Modellen mittels verschiedener bildgebender und funktionaler Verfahren untersucht. Hierbei bestätigte sich die zentrale Hypothese, dass Emperipolesis eine heterogene Interaktion mit divergierenden zeitlichen Abläufen und Lokalisationen neutrophiler Granulozyten darstellt. Zudem wurde zum ersten Mal gezeigt, dass Emperipolesis die Funktion neutrophiler Granulozyten beeinflussen kann. Diese Erkenntnisse unterstreichen die biologische Relevanz von Emperipolesis und tragen wesentlich zum besseren Verständnis dieser faszinierenden Zell-in-Zell Interaktion an der Schnittstelle von Hämostase und Inflammation bei.