

Ivana Andreeva

Activation of FcγRIIIA/CD16a by soluble immune complexes in rheumatoid arthritis

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Professor Dr. med. Hanns-Martin Lorenz

Lösliche Immunkomplexe (ICs) spielen eine wichtige Rolle als Entzündungsmechanismus bei rheumatologischen Erkrankungen. Viele der Organmanifestationen dieser Krankheiten werden durch lösliche ICs vermittelt. Der Nachweis und die Quantifizierung löslicher ICs wurden bisher jedoch durch technische Herausforderungen eingeschränkt. Es gibt Methoden der direkten Isolierung sowie indirekte Methoden, die lösliche ICs indirekt über ihre Wirkung auf das Komplementsystem nachweisen. Lösliche ICs vermitteln allerdings viele ihrer Wirkungen über einen alternativen Weg – die Aktivierung von Fcγ-Rezeptoren. Eine empfindliche und spezifische Methode zur Quantifizierung löslicher ICs und ihrer Wirkung auf Fcγ-Rezeptor-tragende-Zellen könnte als Biomarker dienen und einen schwereren Verlauf mit ausgeprägten Organmanifestationen verschiedener Autoimmunerkrankungen vorhersagen.

In dieser Arbeit habe ich einen neuartigen Assay verwendet, um bioaktive lösliche ICs nachzuweisen. Dieser Assay kann nicht nur lösliche ICs nachweisen, sondern auch die Bioaktivität löslicher ICs in einer biologischen Probe quantifizieren und so Rückschlüsse auf deren Funktionalität, Relevanz und Fähigkeit zur Aktivierung von FcγR-exprimierenden Zellen, wie z. B. natürlichen Killerzellen, ermöglichen. Der Assay basiert auf Reporter-Maus-BW5147-Zellen, die über lentivirale Transduktion modifiziert werden und die extrazelluläre Domäne des menschlichen CD16a Rezeptor (FcγRIIIA) stabil exprimieren. Die Reporterzellen wurden mit biologischen Proben inkubiert. Die Bindung von löslichen ICs an das CD16a Rezeptor führt zur Produktion von Maus-IL-2, das dann durch ELISA quantifiziert wird. Ich habe Seren und Synovialflüssigkeiten von Patienten mit RA untersucht und die Aktivierung des CD16a Rezeptors bei Patienten mit unterschiedlichen klinischen Merkmalen verglichen: Vorhandensein von RF und ACPA, Aktivität der Krankheit und Therapie mit verschiedenen Arzneimittelklassen. Ich habe auch RA Patienten mit gesunden Kontrollpersonen und Patienten mit anderen rheumatologischen Erkrankungen verglichen.

Als erstes Hauptergebnis habe ich das Vorhandensein bioaktiver ICs im Serum gesunder Kontrollpersonen, Patienten mit Rheumatoider Arthritis (RA), Psoriasis Arthritis oder Systemischer Lupus erythematoses, nachgewiesen. Das Serum von Patienten mit RA wies eine signifikant höhere IC-Bioaktivität auf als das Serum gesunder Kontrollpersonen oder Patienten mit Psoriasis Arthritis. Darüber hinaus zeigte die IC-Bioaktivität im Serum von RA-Patienten eine hohe Variabilität. Es gab keine statistisch signifikante Korrelation zwischen klinischen Parametern und dem CD16 Aktivierungsindex aus Serum.

Zweitens habe ich das Vorhandensein von ICs in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit Gelenkerkrankungen nachgewiesen. RA Patienten hatten eine signifikant höhere IC-Bioaktivität in ihrer Synovialflüssigkeit als Patienten mit anderen Gelenkerkrankungen. Darüber hinaus wies die Synovialflüssigkeit von RA Patienten eine deutlich höhere IC-Bioaktivität auf als gepaartes Serum. Die IC-Bioaktivität in der Synovialflüssigkeit der Patienten korrelierte statistisch signifikant mit den RF- und ACPA-Konzentrationen im Serum.

Drittens habe ich gezeigt, dass die durchflusszytometrische Analyse der Maus-CD69-Expression als Alternative zur ELISA-basierten Quantifizierung von sezerniertem Maus-IL-2 verwendet werden kann. Darüber hinaus habe ich mithilfe der Durchflusszytometrie gezeigt, dass IgG aus biologischen Proben an den CD16a Rezeptor bindet, für dessen Aktivierung jedoch eine hohe IC-Bioaktivität, sprich der Nachweis von Komplexen im Reporterzellmodell, erforderlich ist.

Insgesamt wurde ein neuartiger Fc γ R Reporterzell Assay zum Nachweis und zur Quantifizierung bioaktiver löslicher ICs weiterentwickelt und erstmals ausführlich in RA angewendet. Mithilfe dieses Assays zeigt die Studie zum ersten Mal das Vorhandensein funktionell aktiver löslicher ICs bei RA mit lokaler Anreicherung in den Gelenken.