

Zusammenfassung

Der Janus Kinase/*Signal Transducers and Activators of Transcription* (Jak/STAT) Signalweg vermittelt die Signalweiterleitung von verschiedenen pro-inflammatorischen Zytokinen, die sich *downstream* von Typ I und Typ II Zytokinrezeptoren befinden. Jak Inhibitoren hemmen inflammatorische Zytokin-vermittelte Antworten und werden in entzündungs-assoziierten Pathologien wie rheumatoide Arthritis (RA), Psoriasis (PsO) und entzündlichen Darmerkrankungen eingesetzt (IBD). Obwohl Jak Inhibitoren pro-inflammatorische Signalkaskaden hemmen, zeigen Patienten in Therapien mit Jak Inhibitoren ein geringes Risiko für infektiöse Komplikationen. Die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen für diese klinische Beobachtung sind wenig verstanden. Eine bessere Kenntnis über die Regulationen von Immunantworten, speziell bei Behandlungen mit Jak Inhibitoren, sind wesentlich für ein genaueres Verständnis und für die Optimierung von therapeutischen Ansätzen.

Makrophagen spielen eine wichtige Rolle in der Abwehr von Krankheitserregern. Die Pathogen-erkennenden *Toll-like* Rezeptoren (TLRs) sind nicht nur dafür bekannt, dass sie die Expression von pro-inflammatorischen Zytokinen induzieren, sondern auch die Expression vom anti-inflammatorischen Interleukin (IL)-10 in Immunzellen, welches eine Rolle in Evasionsmechanismen spielt. Die Tatsache, dass die IL-10/IL-10 Rezeptor (IL-10R) Signalweiterleitung über Jak1 und Tyrosinkinase 2 (Tyk2) vermittelt wird, hat uns zunächst dazu angespornt, den Effekt des Jak Inhibitors Tofacitinib (Tofa) auf den IL-10/IL-10R Signalweg, in humanen, TLR4-aktivierten, aus Monozyten differenzierten Makrophagen (MDMs), zu untersuchen. Des Weiteren erforschten wir genauer die Rolle der IL-10/IL-10R Signalwegweiterleitung in zwei wichtigen Makrophagen Abwehrmechanismen. Auf der einen Seite, die Vitamin D-vermittelte Induktion des antimikrobiellen Peptids Cathelicidin (CAMP). Auf der anderen Seite die Induktion der Hepsidin (HAMP)-regulierten Eisen Sequestration, die obwohl sie gegen extrazelluläre Mikroben gerichtet ist, vorteilhafte Konsequenzen für intrazelluläre Pathogene mit sich zieht. Zuletzt haben wir den Effekt von Tofa auf diese Abwehrmechanismen-, sowie auf antigenpräsentierende Marker in TLR4-aktivierten MDMs, untersucht. In unserem Modell stimulierten wir MDMs mit *Neisseria gonorrhoeae* lysate (GC) und das in der äußeren Membran-enthaltende Lipopolysaccharid (LPS), welche beide TLR4 binden und aktivieren.

Als Erstes haben wir bestätigt, dass die Aktivierung von TLR4 zur Induktion von IL-10 und nachfolgender autokrinen Phosphorylierung von STAT3 (pSTAT3) führt, mit Hilfe von ELISA Analysen der IL-10 Sekretion sowie FACS Analysen von pSTAT3. Außerdem haben wir herausgefunden, dass Tofa die IL-10-vermittelte Phosphorylierung von STAT3 (pSTAT3) in TLR4-aktivierten MDMs effizient inhibiert. Speziell die Blockierung vom IL-10R durch einen monoklonalen Antikörper (mAb), als auch das Benutzen von Tofa, hat zur Inhibierung von

pSTAT3 in GC-aktivierten MDMs geführt. Als Zweites haben wir herausgefunden, dass die TLR4-induzierte IL-10/IL-10R Signalweiterleitung, die Antworten von Makrophagen verändert. Hierzu konnten wir mit Hilfe von qPCR und FACS Analysen messen, dass die Aktivierung von TLR4 zur Repression der Vitamin D-induzierten CAMP Expression führt und es durch eine Blockierung des IL-10R, zur Verbesserung der Expression von CAMP in human TLR4-aktivierten MDMs kommt. Außerdem hat die Blockierung des IL-10R zur Induktion der TLR4-vermittelten Expression von den antigenpräsentierenden Molekülen *cluster of differentiation* (CD) 86 und HLA-DR geführt. Des Weiteren führte die Inhibierung des IL-10R zur Reduktion der TLR4-induzierten HAMP Expression. Als Drittes haben wir herausgefunden, dass Tofa verschiedene Effekte auf diese Abwehrmechanismen ausübt. Die Behandlung mit Tofa hat die CAMP Expression sowie die Genexpression anderer mitbeteiligter Moleküle in TLR4-aktivierten MDMs aufgehoben, jedoch wurde die Expression von CD86 und HLA-DR verbessert. Des Weiteren hat Tofa die Induktion von TLR4-vermittelten, intrazellulären HAMP in human MDMs verhindert.

Zusammenfassend unterstützt unsere Studie das Konzept von komplexen Immun-Evasionsstrategien von intrazellulären Pathogenen, indem sie den IL-10/IL-10R Signalweg induzieren, um Abwehrmechanismen humaner Makrophagen zu verändern. Außerdem konnten wir verschiedenen Effekte von Tofa auf Funktionen von Makrophagen aufzeigen, welche Einblicke in die Effekte von Jak Inhibitoren geben. Diese Einblicke sind für das klinische Sicherheitsprofil in Jak-Inhibitor Therapien, in Bezug auf infektiöse Komplikationen, vom Nutzen. Entsprechend zeigen wir eine mögliche Erklärung für das geringe Risiko von Infektionen bei Behandlungen mit Jak Inhibitoren auf. Bezogen auf den anti-mikrobiellen, Pro-Wirt Effekt von Tofa auf die HAMP Expression, schlagen wir die TLR4-IL-10-STAT3-HAMP Achse als potentiell therapeutisches Target zur Unterbrechung der Pathogen-induzierten Evasion vor.