

Wissenschaftliches Hauptprogramm (Teil 2):  
Grundsatzreferat zur Verleihung des Dermopharmazie-Innovationspreises

# Der Pathomechanismus der Psoriasis vulgaris – Eine Autoimmunreaktion gegen Melanozyten

*Prof. Dr. Jörg Christoph Prinz*

*Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie*

*Ludwig-Maximilians-Universität München*

Psoriasis vulgaris ist eine chronisch-entzündliche T-Zell-vermittelte Erkrankung der Haut und der Gelenke. Sie betrifft weltweit mehr als 100 Millionen Menschen und gehört zu einem klinisch heterogenen Spektrum komplexer immunologisch vermittelter Erkrankungen (immune-mediated diseases, IMDs). Es beinhaltet neben der Psoriasis auch die ankylosierende Spondylitis, rheumatoide Arthritis, juvenile idiopathische Arthritis, entzündliche Darmerkrankungen, multiple Sklerose und andere Krankheiten. Sie sind charakterisiert durch chronische, immunvermittelte Entzündungen mit entsprechenden Folgeschäden für Zellen, Gewebe oder Organe.

Allen diesen Erkrankungen gemeinsam ist eine komplexe polygenetische Veranlagung mit teilweise überlappenden Genloci oder -varianten, die in genomweiten Assoziationsstudien identifiziert wurden. Die am stärksten mit IMDs assoziierten Genorte beziehen sich auf die „Humane Leukozyten Antigen“- (HLA)-Region auf Chromosom 6p21. Sie reflektieren die HLA-Assoziation der IMDs, die seit vielen Jahrzehnten bekannt ist. Ihre Funktion in der Pathogenese der IMDs ist aber weiterhin ungeklärt. Allen IMDs gemeinsam ist auch, dass sie als Autoimmunerkrankungen angesehen werden, die entsprechenden Autoantigene oder Zielzellen für die jeweiligen Erkrankungen aber nicht bekannt sind und damit der autoimmune Charakter nicht bewiesen ist.

Auch Psoriasis weist eine starke HLA-Assoziation auf. Hauptrisikogen zum Erwerb einer Psoriasis ist das HLA-Klasse I-Allel HLA-C\*06:02 auf dem Psoriasis-Suszeptibilitäts-Locus 1 (PSORS1 auf Chromosom 6p21.33). Durch ein ausgeprägtes Kopplungsungleichgewicht von HLA-C\*06:02 mit anderen definierten Genvarianten blieb seine kausale Bedeutung für die Entstehung der Psoriasis aber ungeklärt. Das von HLA-C\*06:02 kodierte Protein ist ein HLA-Klasse I-Molekül. Die Aufgabe von HLA-Klasse I-Molekülen besteht in der Präsentation zytoplasmatischer Peptidantigene an die T-Zell-Rezeptoren (TZRn) von CD8+ T-Zellen. Eine HLA-Klasse I-restringierte Immunantwort sollte daher grundsätzlich gegen eine Zielzelle gerichtet sein, welche dieses Antigen exprimiert. Die HLA-Assoziation der Psoriasis wäre damit vereinbar mit einer durch HLA-C\*06:02 vermittelten Autoimmunreaktion von CD8+ T-Zellen gegen bestimmte Zielzellen in der Haut. CD8+ T-Zellen spielen eine besondere Rolle bei der Psoriasis: die Bildung neuer psoriatischer Hautveränderungen beruht auf einer epidermalen Infiltration von CD8+ T-Zellen, die als Zeichen einer antigenspezifischen Aktivierung klonal expandieren.

Die hypothesenfreie Aufklärung der Spezifität einer T-Zell-vermittelten pathogenen



Immunantwort bei menschlichen Erkrankungen erfordert entsprechend den Mechanismen der Immunaktivierung die Verfügbarkeit des restringierenden HLA-Moleküls, der Zielzelle, der pathogenen T-Zellen und der Peptidantigene. Da T-Zellen bei menschlichen Erkrankungen nur begrenzt für immunologische Untersuchungen einsetzbar sind, ist die T-Zell-Forschung hier auf klonierte rekombinante TZRen angewiesen. Aufgrund der experimentellen Herausforderungen, die insgesamt hiermit verbunden sind, ist die Aufklärung der Spezifität der pathogenen Immunantwort bisher für keine der IMDs gelungen.

Um die Spezifität der psoriatischen Immunantwort zu untersuchen, mussten wir zunächst eine Methode entwickeln, um die TZRen aus einzelnen T-Zellen molekular zu charakterisieren. Mit dieser Methode haben wir dann das psoriatische T-Zell-Infiltrat untersucht. Hiermit konnten in läsionaler Epidermis von HLA-C\*06:02-positiven Psoriasispatienten klonal expandierte CD8+ T-Zellen identifiziert werden. Wir haben dann die Gene der TZRen der expandierten CD8+ T-Zellen in Expressionsvektoren kloniert und in eine TZR-defiziente CD8+ Maus-T-Hybridom-Zelllinie übertragen. Diese TZR-Hybridome tragen somit die Spezifität der CD8+ T-Zellen aus den Psoriasisläsionen. Dieses Reporter-Zellsystem haben wir dann für die Identifikation möglicher Zielzellen und Antigene der psoriatischen Immunantwort eingesetzt.

Bei unseren Untersuchungen haben wir uns auf einen pathogenen TZR mit einem  $V\alpha 3S1/V\beta 13S1$ -Rearrangement aus einem epidermalen CD8+ T-Zell-Klon eines HLA-C\*06:02-positiven Psoriasispatienten konzentriert. Zunächst mussten die Zielzellen und HLA-Restriktion des  $V\alpha 3S1/V\beta 13S1$ -TZR durch Kokultur des  $V\alpha 3S1/V\beta 13S1$ -TZR-Hybridoms mit verschiedenen Zelltypen identifiziert werden. Hierbei stellte sich heraus, dass der  $V\alpha 3S1/V\beta 13S1$ -TZR spezifisch gegen Melanozyten reagierte, und diese Reaktivität wurde durch das HLA-C\*06:02-Molekül vermittelt.

Dabei machte es keinen Unterschied, ob die Melanozyten von HLA-C\*06:02-positiven Psoriasispatienten, gesunden Probanden oder aus Melanomzelllinien stammten: sie waren in allen Fällen für den  $V\alpha 3S1/V\beta 13S1$ -TZR immunogen. Ausgiebige immunhistologische Untersuchungen an Psoriasisläsionen von zahlreichen Psoriasispatienten konnten dann bestätigen, dass Melanozyten in der Tat Zielzellen einer Autoimmunantwort bei Psoriasis sind. Psoriasis beruht somit auf einer Autoimmunreaktion der CD8+ T-Zellen gegen Melanozyten, die präferentiell durch HLA-C\*06:02 vermittelt wird.

In den weiteren Untersuchungen haben wir dann plasmidkodierte Peptidbibliotheken eingesetzt, um das von HLA-C\*06:02-präsentierte Autoantigen zu identifizieren. Dies war eine weitere erhebliche experimentelle Herausforderung, da TZRen polyspezifisch sind. Anders als Antikörper, die ganz spezifisch antigene Epitope erkennen, erkennen TZRen lediglich bestimmte Aminosäuremotive in den Peptidliganden im Kontext des präsentierenden HLA-Moleküls.

Nach Identifikation des Aminosäuremusters, welches in Verbindung mit HLA-C\*06:02 vom  $V\alpha 3S1/V\beta 13S1$ -TZR erkannt wird, haben wir dann das Transkriptom von Melanozyten und das menschliche Proteom nach Proteinen durchsucht, welche ein korrespondierendes Aminosäuremuster aufweisen. Von zirka 200 getesteten Kandidatenantigenen wurden letztendlich sechs Peptide aus natürlichen menschlichen Proteinen vom  $V\alpha 3S1/V\beta 13S1$ -TZR erkannt. Aber nur eines von ihnen, ein Peptid aus dem ADAMTS-like protein 5 (ADAMTSL5), wirkte im Kontext des Gesamtproteins immunogen. Nur dieses Peptid wurde im Rahmen der Antigenprozessierung aus



dem Gesamtprotein herausgeschnitten und auf das HLA-C\*06:02-Molekül geladen, und dies erfolgte nur in Melanozyten, nicht aber in anderen Zelltypen. Der Nachweis der Immunogenität von ADAMTSL5 für Psoriasis-Patienten rundete dann die Untersuchungen ab.

In der Summe wurde damit erstmalig der Beweis erbracht, dass Psoriasis vulgaris eine Autoimmunerkrankung darstellt und durch eine Autoimmunreaktion gegen Melanozyten zustande kommt. Dies erklärt den hautspezifischen Charakter der Erkrankung, da Melanozyten weitgehend hautspezifische Zellen sind. Das Hautrisikogen der Psoriasis, HLA-C\*06:02, prädisponiert damit offensichtlich zu einer Psoriasis, indem es diese Autoimmunreaktion präferentiell durch eine Autoantigenpräsentation von Melanozyten vermittelt.

Mit diesen Ergebnissen ist es erstmals für eine der großen chronisch-entzündlichen Erkrankungen im Menschen gelungen, unter Verwendung eines pathogenen TZRs die pathogenetische Kette vom prädisponierenden HLA-Haupttrisikogen über die Spezifität des entzündlichen T-Zell-Infiltrates, die Identifikation der Zielzellen der Autoimmunantwort bis hin zum Nachweis eines Autoantigens zu entschlüsseln. Sie erlauben nun eine Neuordnung der Psoriasis-Pathogenese. Bei ihr steht das prädisponierende HLA-Molekül, in diesem Falle HLA-C\*06:02, im Zentrum der Autoimmunpathogenese. Das Zustandekommen der psoriatischen Autoimmunreaktion und die Ausprägung der Krankheitsschwere benötigen jedoch zusätzliche genetische Veranlagungen. Diese sind zu suchen in den funktionellen Auswirkungen anderer mit Psoriasis assoziierter genetischer Risikofaktoren.

Nahezu alle der bisher über 40 identifizierten mit Psoriasis assoziierten Genloci betreffen Gene mit einer Funktion in der angeborenen und der erworbenen Immunantwort. Hierzu gehören Gene mit Funktion für die Aktivierung der NF- $\kappa$ B und Typ-1-Interferonkaskade; weiterhin Gene, welche die Ausreifung von CD8+ T-Zellen im Thymus betreffen; dann gehören hierzu Gene, welche die IL-23/Th17-Kaskade beeinflussen. In der Summe bedingen sie offensichtlich eine gesteigerte Aktivierung der angeborenen Immunität auf unspezifische Reize. Dies ermöglicht die Aktivierung der Autoimmunantwort und ihre Differenzierung in einen T17-Phänotyp, der durch die Produktion von IL-17 und IL-22 letztendlich die typische Ausprägung der psoriatischen Entzündung bedingt.

Zusammenfassend haben unsere Arbeiten somit folgende Einsichten in die Pathogenese der Psoriasis ermöglicht:

- Psoriasis ist eine Autoimmunerkrankung, welche durch CD8+ T-Zellen vermittelt wird.
- Melanozyten sind die Zielzellen der HLA-Klasse I-restringierten psoriatischen Autoimmunreaktion.
- Das Haupttrisikoallel der Psoriasis vulgaris, HLA-C\*06:02, vermittelt die Bereitschaft zur Psoriasis, indem es diese Autoimmunreaktion gegen Melanozyten durch Präsentation von Autoantigenen ermöglicht.
- ADAMTSL5 ist ein von HLA-C\*06:02 präsentiertes melanozytäres Autoantigen.
- Entsprechend der Polyspezifität von TZRen muss die Autoantigenität natürlicher menschlicher Peptide im Kontext des Gesamtproteins und in der Zielzelle nachwiesen werden.

Insgesamt sollten diese Einsichten auch eine gezielte Untersuchung der Pathogenese der anderen HLA-assoziierten IMDs ermöglichen.

