

## Zusammenfassung

Bei Assoziation mit dem HLA-Klasse-I-Molekül B27 und bekannten bakteriellen Induktoren ist die Pathogenese der reaktiven Arthritis (ReA) immer noch ungeklärt. Es existieren eine Reihe von Hypothesen, die zu erklären versuchen, wie es über die Interaktion zwischen Bakterium, HLA-B27 und T-Zelle zur Entwicklung der Arthritis kommt.

Die Identifikation von immundominanten bakteriellen Antigenen, denen möglicherweise eine entscheidende Rolle bei der Induktion der Arthritis zukommt, spielt dabei eine wichtige Rolle: Neben dem Gewinn neuer Erkenntnisse zur Pathogenese könnten sich dadurch sowohl diagnostische als auch alternative therapeutische Optionen eröffnen.

Bis dato sind keine immundominanten, T-Zell-Stimulation induzierenden Antigene des ReA-assoziierten Bakteriums *Shigella flexneri* bekannt.

Die vorliegende Untersuchung identifizierte nach Präparation der ribosomalen *Shigella*-Proteine erstmals T-Zell-Stimulation induzierende Antigene von *S. flexneri*, die eine Rolle bei der Pathogenese der ReA spielen könnten und erbrachte den Nachweis, dass ribosomale Proteine eine Quelle immunogener Antigene mit interindividueller Immundominanz darstellen.

Dazu wurde ein spezielles Verfahren zur Bakterienanzucht verwendet, das den Übergang der Bakterien von der logarithmischen in die stationäre Wachstumsphase verhinderte, und somit über eine höhere Ausbeute an 70S-Ribosomen als eine Zellernte in der stationären Wachstumsphase auch die Ausbeute der zu präparierenden ribosomalen Proteine deutlich erhöhte.

Durch Hinzufügen der Zonalzentrifugation (Dichtegradientenzentrifugation) in das Präparationsprotokoll zur Zerlegung der 70S-Ribosomen in die beiden ribosomalen Untereinheiten 30S und 50S erhöhte sich die Auflösung der konsekutiv eingesetzten Separationsverfahren (Ionenaustauscherchromatographie und RP-HPLC) mit einer größeren Anzahl von bereits vollständig aufgereinigten einzelnen ribosomalen Proteinen.

Die Etablierung einer Mini-2-D-PAGE in Briefmarkengröße mit den Dimensionen 3 x 4 x 0,05 cm ermöglichte weiterhin bei einer sehr hohen Auflösung, einer äußerst kurzen Laufzeit der Elektrophorese und bei geringen Proteinmengen die Charakterisierung einer

unbekannten Proteinpräparation innerhalb weniger Stunden unter Verbrauch äußerst geringer Proteinmengen.

Bei der Untersuchung der antigenspezifischen T-Zell-Antwort auf *Shigella*-Antigene induzierten drei der separierten ribosomalen Proteinfractionen aus *Shigella* bei Kultivierung mit synovialen mononukleären Zellen (SFMNZ) von HLA-B27-positiven Patienten mit *Shigella*-getriggelter ReA im Lymphozytenproliferationsassay übereinstimmend eine hohe T-Zell-Stimulation.

Die gelelektrophoretische Charakterisierung dieser Fraktionen identifizierte die Proteine L22/L3, L23 und S3 aus über fünfzig ribosomalen Proteinen als erstmals beschriebene, immundominante T-Zell-Antigene von *S. flexneri*.

L23 wurde auch bei dem ReA-assoziierten Bakterium *Yersinia enterocolitica* als immundominantes T-Zell-Antigen beschrieben.

Interessanterweise provozierten ganze, desintegrierte Zellen von *S. flexneri* im Lymphozytenproliferationsassay mit SFMNZ von HLA-B27-positiven Patienten mit *Shigella*-getriggelter ReA übereinstimmend deutlich höhere Stimulationen als solche von *E. coli*, obgleich beide Bakterien zur gleichen Gattung zu rechnen sind und jüngere Untersuchungen zeigen konnten, dass es sich bei den bisher als *Shigella*-Spezies` bezeichneten Isolaten um *E. coli*-Klone handelt.

Im Vergleich hinsichtlich T-Zell-stimulatorischer Potenz von gesamter ribosomaler 30S-Untereinheit (TP30), gesamter ribosomaler 50S-Untereinheit (TP50) sowie der zytoplasmatischen Fraktion (S100) von *S. flexneri* ließ sich keine übereinstimmend höchste Proliferation auf eine der drei Fraktionen erkennen und somit keine Aussage darüber treffen, in welcher der drei Fraktionen am ehesten arthritogene Antigene zu vermuten sind.

In Übereinstimmung mit dem Nachweis einer T-Zell-Antwort auf die ribosomalen Proteine von *Shigella* konnte deren Immunogenität auch auf humoraler Ebene unter Verwendung des Western Blot und den Seren von Patienten mit *Shigella*-getriggelter ReA nachgewiesen werden.

Dabei wurden die auf zellulärer Ebene die höchsten Stimulationen induzierenden ribosomalen Proteine ebenfalls auf humoraler Ebene detektiert. Der Vergleich zwischen Patienten- und Kontrollseren wies in Bezug auf diese immundominanten T-Zell-Antigene keine signifikant unterschiedlichen Antikörperprofile nach, weshalb sie auf humoraler Ebene nicht als Screeningmethode mit Frage nach stattgehabtem Infekt einsetzbar sind.

Antikörper gegen das ribosomale Protein S13 wurden dahingegen nur im Serum der Patienten mit *Shigella*-getriggelter ReA, nicht im Serum der gesunden Kontrollen detektiert. Die humorale Immunantwort gegen S13 bietet sich somit als mögliches Screeningwerkzeug zur Erregeridentifikation an.