

6 Zusammenfassung

Hodgkin Lymphome gehören zu den häufigsten malignen Erkrankungen des Immunsystems. Es konnte gezeigt werden, dass Hodgkin/Reed Sternberg (H/RS) Zellen, die malignen Zellen des Hodgkin Lymphoms, von B-Zellen abstammen. Die molekulare Pathogenese der H/RS Zellen ist bis heute ungeklärt. Wichtige Faktoren, die in der Pathogenese dieser Zellen eine Rolle spielen, sind die permanente Aktivität des Transkriptionsfaktors *Nuclear Factor* (NF)- κ B und das in mehr als 50 % der H/RS Zellen exprimierte Latente Membranprotein 2A (LMP2A) des Epstein-Barr Virus.

Ziel dieser Arbeit war es, erstmals ein Mausmodell zu entwickeln, in dem NF- κ B permanent aktiv ist und LMP2A-exprimiert wird. Die Auswirkungen der beiden Faktoren auf die B-Zellen der Mäuse sollten untersucht werden.

Zur Etablierung des Mausmodells wurden modifizierte fötale hämatopoietische Stammzellen in B-Zell-defiziente Rezipienten transplantiert. Auf diese Weise konnte man Untersuchungen an Mäusen mit definiert veränderten B-Zellen durchführen. Die Spender-Stammzellen stammten aus Föten mit einem knockout des NF- κ B-Inhibitors I κ B α . Sie wurden vor der Transplantation mit einem LMP2A-kodierenden Retrovirus infiziert. Als Kontrolle dienten mit dem LMP2A-Retrovirus infizierte Stammzellen aus Wildtyp-I κ B α -Föten.

Die permanente Aktivität von NF- κ B und die Expression von LMP2A konnten bereits fünf Wochen nach der Transplantation in den hämatopoietischen Zellen der Rezipienten nachgewiesen werden. So ermöglichte das Modell erstmals *in vivo* die Expression von LMP2A und die permanenten Aktivität von NF- κ B in Kombination zu untersuchen.

Durchflusszytometrische Analysen belegten einen verringerten Anteil an B-Zellen in Zellfraktionen mit LMP2A Expression. Hervorzuheben ist, dass der Anteil an B-Zellen, die B-Zell-Rezeptoren in hoher Dichte exprimierten (*IgM high*), innerhalb dieser Zellfraktion niedriger war als in Fraktionen ohne LMP2A Expression. Als Ursache hierfür kommt die - im Rahmen dieser Arbeit nachgewiesene - durch LMP2A und permanente NF- κ B Aktivität verminderte Expression der B-zellspezifischen Transkriptionsfaktoren EBF und Pax5 in Betracht. Deren Verlust führt in *knockout* Mausmodellen zur Unterbrechung der B-Zell-Entwicklung im pro-B-Zell-Stadium.

Proliferationsversuche bewiesen eine Hemmung der Proliferation der B-Zellen durch LMP2A. Diese Hemmung und die mittels RT-PCR Analysen gezeigte Herunterregulierung von B-Zell-Differenzierungsfaktoren (EBF und Pax5) spiegeln

wider, dass die B-Zellen in ihrer normalen Differenzierung und Proliferation gestört sind.

Die permanente Aktivität von NF- κ B forcierte die Proliferation der B-Zellen nach Stimulation mit B-zellspezifischen Stimulantien. Diese Zellen profitierten also von Überlebensvorteilen, die sie gegenüber Zellen mit physiologischer NF- κ B Aktivität hatten.

Sowohl NF- κ B als auch LMP2A steigerten die Transkription des Rezeptors und Transkriptionsfaktors Notch1. Es ist bereits belegt, dass dieser Faktor in H/RS Zellen aktiv ist und proliferative und anti-apoptische Effekte aufweist. NF- κ B und LMP2A könnten also den Notch1 Signalweg nutzen, um das Überleben der B-Zellen zu sichern.

Im Rahmen dieses Mausmodells konnte gezeigt werden, dass die permanente Aktivität des Transkriptionsfaktors NF- κ B und die Expression des Epstein-Barr Virus Proteins LMP2A nicht ausreichend sind für die maligne Transformation von B-Zellen in Milz und Knochenmark. Die Untersuchungen konnten allerdings demonstrieren, dass beide Faktoren auf B-Zellen und deren Transformation Auswirkungen haben. NF- κ B verstärkt dabei das Tumorpotential der B-Zellen durch forcierte Proliferation. Beide Faktoren verringern die Transkription der B-Zell-Differenzierungsfaktoren EBF und Pax5.