

Aus der Medizinischen Klinik
mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Signifikant erhöhte STAT1-Spiegel in Lupus-B-Zellen als
Verknüpfung gesteigerter Interferonsignatur und gestörter
B-Zellfunktion**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Arman Aue

aus Wien

Datum der Promotion: 03.12.2021

1 Inhaltsverzeichnis	
2 Abbildungsverzeichnis	3
3 Abkürzungsverzeichnis	4
4 ABSTRACTS	5
4.1 Abstract (Deutsch)	5
4.2 Abstract (Englisch)	6
5 EINLEITUNG	7
6 METHODIK	10
6.1 Studienpopulation	10
6.2 Antikörperliste	10
6.3 Durchflusszytometrie	11
6.4 Siglec-1 (CD169) Expression von Monozyten	11
6.5 Expression von STAT1 und STAT3 in B- und T-Zellen	12
6.6 Gewinnung von PBMCs aus Vollblut	14
6.7 IFN-Rezeptorexpression von Monozyten und Lymphozyten	14
6.8 Funktionelle Analyse von IFN α und IFN γ Signalwegen	14
6.9 Statistische Auswertung	15
7 ERGEBNISSE	15
7.1 Signifikant erhöhte STAT1-Gesamtexpression in SLE B- und T-Zellen	15
7.2 STAT1-Expression korreliert mit IFN-Signatur und Lupusaktivität	18
7.3 Induktion von pSTAT1 nach IFN α -Stimulus in SLE-Plasmablasten	18
7.4 Reduzierter STAT1-Proteinanstieg nach 48h Inkubation mit IFN	20
7.5 Pharmakologische Beeinflussung von STAT1 in vivo und in vitro	23
8 DISKUSSION	25
9 Literaturverzeichnis	27
10 Anhang	32
11 Eidesstattliche Versicherung	35

12 Anteilserklärung.....	36
13 Auszug aus der Journal-Summary-List	37
14 Publikation.....	38
15 Lebenslauf	46
16 Publikationsliste.....	48
17 Danksagung	49

2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 5-1 Darstellung des IFN-JAK-STAT-Signalwegs anhand von Typ I und II IFN	9
Abb. 6-1 „Gating-Strategie“	13
Abb. 7-1 STAT1- und STAT3-Expression in B-Zellen von HD und SLE	16
Abb. 7-2 Gesamtübersicht der STAT1- und STAT3-Expression in B- und T-Zellen aller untersuchter Gruppen	17
Abb. 7-3 Erhöhtes STAT1 in SLE-Lymphozyten korreliert mit Siglec-1 und SLEDAI	19
Abb. 7-4 Gesteigerte pSTAT1-Aktivierung in SLE-Plasmablasten nach Stimulation mit IFN α	20
Abb. 7-5 Oberflächliche Expression von Interferonrezeptoren	21
Abb. 7-6 Langzeitinkubation von PBMCs mit Typ I und II IFN	21
Abb. 7-7 Siglec-1 Expression nach 48h Inkubation mit Typ I und II IFN	22
Abb. 7-8 STAT1-Reduktion unter Glukokortikoidgabe in vivo	23
Abb. 7-9 STAT1- und STAT3-Expression nach 48h Inkubation mit Fludarabin	24
Abb. 10-1 Kinetikkurven für Kurzzeitstimulation mit IFN α	32
Abb. 10-2 Kinetikkurven für Kurzzeitstimulation mit IFN γ	33
Abb. 10-3 Etablierung IFN-Langzeitinkubation	34

3 Abkürzungsverzeichnis

CST	<i>Cytometer Setup and Tracking</i>
DAPI	<i>4',6-Diamidin-2-phenylindol</i>
DAS28	<i>Disease Activity Score 28</i>
DMSO	<i>Dimethylsulfoxid</i>
ESSDAI	<i>EULAR Sjögren's syndrome disease activity index</i>
EULAR	<i>European League against Rheumatism</i>
FCS	<i>Fetales Kalbserum</i>
FSC	<i>Forward scatter</i>
GAS	<i>IFN-γ-activated site</i>
HD	<i>Gesunde Probanden (Healthy donors)</i>
IFN	<i>Interferon</i>
IFNAR	<i>IFNα-Rezeptor</i>
IFNGR	<i>IFNγ-Rezeptor</i>
IRF9	<i>IFN-regulatory factor 9</i>
ISGF3	<i>IFN-stimulated gene factor 3</i>
ISRE	<i>IFN-stimulated response elements</i>
JAK	<i>Januskinase</i>
MFI	<i>Median Fluorescence Intensity</i>
min	<i>Minuten</i>
PB	<i>Plasmablasten</i>
PBMCs	<i>Peripher mononukleäre Zellen</i>
pSS	<i>Primäres Sjögren-Syndrom</i>
RA	<i>Rheumatoide Arthritis</i>
rpm	<i>radiation per minute</i>
RT	<i>Raumtemperatur</i>
SLE	<i>Systemischer Lupus erythematoses</i>
SLEDAI	<i>Systemic Lupus Erythematosus Disease Index</i>
SSC	<i>Side scatter</i>
STAT	<i>Signal Transducer and Activator of Transcription</i>
TYK2	<i>Tyrosine kinase 2</i>
xg	<i>Relative Zentrifugalkraft</i>

4 ABSTRACTS

4.1 Abstract (Deutsch)

Ziele

Systemischer Lupus erythematosus (SLE) ist pathophysiologisch insbesondere durch zwei Aspekte gekennzeichnet: eine deutliche Typ I Interferonsignatur sowie gestörte B-zelluläre Funktionen und Interaktionen. Die Verknüpfungen und Schaltstellen dieser beiden Aspekte sind noch weitestgehend unerforscht. Der korrespondierende Januskinase (JAK) – *Signal Transducer and Activator of Transcription* (STAT)-Signalweg kann durch Typ I – III Interferon aktiviert werden und stellt somit potentiell einen therapeutischen Angriffspunkt dar. In dieser Arbeit wurde die basale STAT1- und STAT3-Protein-Expression sowie die Phosphorylierung bzw. Aktivierung von Lupus-B-Zellen und Veränderungen nach Stimulation mit Typ I und II Interferon (IFN) im Vergleich zu anderen Autoimmunerkrankungen sowie gesunden Probanden untersucht.

Methodik

STAT1, pSTAT1, STAT3, pSTAT3 in B- und T-Lymphozyten aus Blutproben von 21 gesunden Probanden (HD), 10 Patienten mit Rheumatoider Arthritis (RA), 7 mit Primärem Sjögren-Syndrom (pSS) und 22 mit SLE wurden durchflusszytometrisch analysiert. Zusätzlich wurden STAT1- und STAT3-Expression und Phosphorylierung in peripheren mononukleären Zellen (PBMCs) vor und nach Inkubation mit Typ I und II IFN untersucht.

Ergebnisse

B- und T-Zellen von Patienten mit SLE zeigen signifikant erhöhte intrazelluläre Spiegel von STAT1, während die basale Phosphorylierung bzw. Aktivierung weitestgehend unverändert scheint. Diese Unterschiede korrelieren mit dem *Systemic Lupus Erythematosus Disease Index 2000* (SLEDAI-2K) und Siglec-1 (CD169), einem auf CD14+ Monozyten exprimierten Biomarker für Lupusaktivität und Interferonsignatur. Nach Stimulation mit IFN α zeigt sich im Vergleich mit HDs eine gesteigerte STAT1-

Phosphorylierung in Plasmablasten von Lupuspatienten, sowie selbiges Phänomen für SLE-Monozyten unter Einfluss von IFN γ .

Zusammenfassung

Die Entdeckung dieser erhöhten STAT1-Expression durch erhöhte Transkription in B-Zellen von Patienten mit SLE zeigt Schnittstellen zweier relevanter pathophysiologischer Ansätze auf. Die bereits bekannte gesteigerte Interferonsignatur bei Lupus, sowie gestörte B-zelluläre Funktionen bzw. Interaktionen scheinen somit in Zusammenhang zu stehen. Daraus ergeben sich vielversprechende Möglichkeiten für pharmakologische Ansätze, die darauf abzielen, IFN- und JAK-STAT-Signalwege zu modulieren bzw. zu hemmen und somit letztendlich auch B-Zellfunktion und Plasmazellhyperaktivität einschließlich Krankheitsaktivität zu beeinflussen.

4.2 Abstract (Englisch)

Objectives

Systemic lupus erythematosus (SLE) is characterized by two pathogenic key features: type I interferon (IFN) and B cell abnormalities. How these signatures are interrelated is not known. Type I-III IFN trigger activation of Janus kinase (JAK) – signal transducer and activator of transcription (STAT). JAK-STAT inhibition is an attractive therapeutic possibility for SLE. STAT1 and STAT3 expression and phosphorylation at baseline and after IFN type I and II stimulation in B cell subpopulations of SLE patients was assessed and compared to other autoimmune diseases and healthy controls (HD) and related to disease activity.

Methods

Expression of STAT1, pSTAT1, STAT3 and pSTAT3 in B and T-cells of 21 HD, 10 rheumatoid arthritis (RA), 7 primary Sjögren's (pSS) and 22 SLE patients was analyzed by flow cytometry. STAT1 and STAT3 expression and phosphorylation in PBMCs of SLE patients and HD after IFN α and IFN γ incubation were further investigated.

Results

SLE patients showed substantially higher STAT1 but not pSTAT1 in all B and T cell subsets. Increased STAT1 expression in B cell subsets correlated significantly with SLEDAI-2K and Siglec-1 on monocytes, a type I IFN marker. STAT1 activation in plasmablasts was IFN α dependent while monocytes exhibited dependence on IFN γ .

Conclusion

Enhanced expression of STAT1 by B cells is apparently related to increased transcriptional activity and candidates as key node of two immunopathogenic features (type I IFN and B cells) related to important signaling pathways and lupus activity. We show that STAT1 is activated upon IFN α exposure in SLE plasmablasts. Thus, JAK inhibitors, targeting JAK-STAT pathways, hold promise to block STAT1 expression and control plasmablast induction in SLE. (Original Abstract modifiziert aus Aue et al, Rheumatology 2020) [1]

5 EINLEITUNG

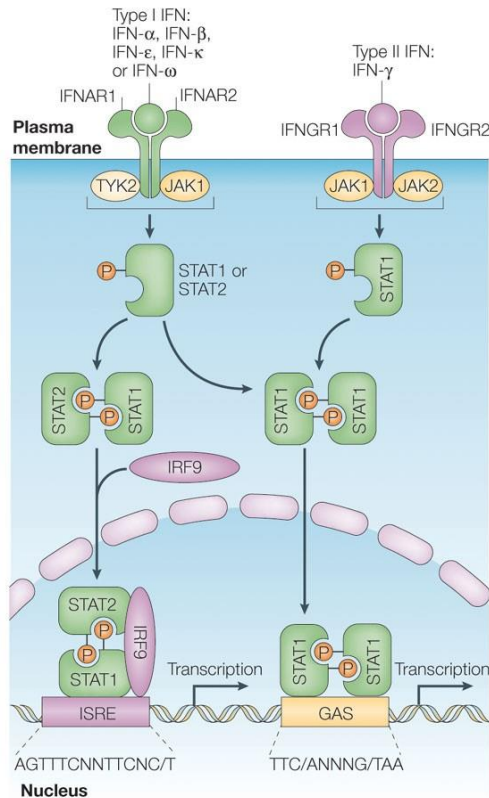
Der systemische Lupus erythematoses (SLE) ist eine komplexe, heterogene Autoimmunerkrankung und dient aufgrund der zahlreichen pathophysiologischen Veränderungen des Immunsystems als Modellerkrankung sowohl um immunologische Grundlagen zu studieren, als auch um therapeutische Ansätze zu erforschen und zu testen. Seit vielen Jahren vermehren sich die Hinweise durch zahlreiche gut belegte Studien, dass insbesondere eine deutliche Interferonsignatur eine wichtige Rolle bei der Erkrankung einnimmt [2,3]. Diskutiert werden hierbei insbesondere eine pathophysiologische Rolle von Typ I, aber auch Typ II und III Interferon (IFN). Es gibt Theorien, dass zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Erkrankung verschiedene IFN-Typen einen dominierenden Effekt haben, wie beispielsweise Munroe et al. anhand Dysregulation der Typ II IFN (IFN γ) Signalwege und gesteigerter Typ I IFN (IFN α) Aktivität bereits vor Diagnosestellung demonstrierten [4]. Da bekannter Weise unterschiedliche Zellen des humanen Immunsystems verschieden stark Oberflächenrezeptoren exprimieren [5], liegt somit die Vermutung nahe, dass über die jeweiligen IFN-Stimuli auch verschiedene zelluläre Mediatoren in den jeweiligen Phasen und Schüben der Erkrankung unterschiedlich stark getriggert werden.

Biesen et al [6,7] konzentrierten sich insbesondere auf den Einfluss von IFN α und konnten zeigen, dass Siglec-1 (CD169) auf der Zelloberfläche von CD14+ Monozyten von Patienten mit SLE vermehrt exprimiert wird und mit erhöhten Serumspiegeln von IFN α korreliert. Siglec-1 dient an der Charité mittlerweile als diagnostischer Parameter sowie auch Biomarker zur Verlaufsbeurteilung und Einschätzung der Krankheitsaktivität und zum Monitoring des Therapieerfolgs – nicht nur bei Lupus, sondern auch anderen Autoimmunerkrankungen insbesondere aus dem rheumatischen Formenkreis, die mit einer gesteigerten Typ I IFN-Signatur einhergehen [8–10].

Ein weiterer wichtiger Faktor in der Pathogenese bei SLE ist die gestörte B-Zellfunktion, die sich letztlich vor allem als Plasmazellhyperaktivität manifestiert und mit gesteigerter Antikörperproduktion gegen körpereigene Antigene einhergeht [11,12]. Inwiefern dieser Aspekt mit einem verstärkten IFN-Einfluss in der Pathophysiologie im Zusammenhang steht, ist noch nicht geklärt.

Pharmakologische Studien mit monoklonalen Antikörpern, sog. Biologika, gerichtet gegen Ziele des IFN-Signalwegs erbrachten bei Lupus unterschiedliche Ergebnisse und konnten nur zum Teil primäre Endpunkte erreichen [13–17]. Ursächlich für das Scheitern vieler dieser Studien könnten sowohl das heterogene Krankheitsbild selbst, unzureichend charakterisierte *Targets*, der nicht exakt definierte Einsatz von Glukokortikoiden in den Studien sowie unzureichend in Phase 2 explorierte Studienendpunkte sein.

Biochemisch führt der Einfluss von IFN über die Bindung an IFN-Rezeptoren an der Zelloberfläche in weiterer Folge zur Autophosphorylierung intrazellulärer Rezeptordomänen, die in enger Assoziation zu sogenannten JAK-Proteinen (Janus-Tyrosinkinasen) stehen (Abb. 5-1). Diese werden in dieser Signalkette ebenfalls phosphoryliert und aktivieren dann über eine weitere Phosphorylierung die intrazellulär im Zytoplasma befindlichen STAT-Proteine, die dann Homo- bzw. Heterodimere bilden. Deren Komplexe wandern in den Zellkern und führen als Transkriptionsfaktoren zu vermehrter mRNA Expression und Translation von Zytokinen, u.a. IFN [18].



Nature Reviews | Immunology

Abb. 5-1 Darstellung des IFN-JAK-STAT-Signalwegs anhand von Typ I und II IFN IFN α - und IFN γ -Rezeptor (IFNAR, IFNGR), Tyrosine kinase 2 (TYK2), STAT1–STAT2–IRF9 (*IFN-regulatory factor 9*, IRF9), *IFN-stimulated gene* (ISG) factor 3 (ISGF3), *IFN-stimulated response elements* (ISREs), *IFN- γ -activated site* (GAS). Originalabbildung aus Platanius et al, Nature Review 2005 [19]

Um diese noch wenig untersuchte Schnittstelle zwischen IFN-Signatur und gestörter B-Zell-Funktion näher zu beleuchten, wurden in dieser Studie die basalen STAT1- und STAT3- Proteinspiegel sowie die Phosphorylierung, also der Aktivierungszustand, in B- und T-Zellen und Monozyten untersucht und mit Krankheitsaktivität in Form von Siglec-1 als biochemischem Parameter, und SLEDAI-2K als rein klinischem Score korreliert. Des Weiteren analysierten wir Gesamtexpression sowie Phosphorylierung unter Kurzzeit- und Langzeitinkubation mit Typ I und II IFN um auch funktionelle Unterschiede zwischen Lupus-B-Zellen im Vergleich zu anderen Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis und gesunden Probanden zu detektieren. Unsere Daten liefern Hinweise für die Verknüpfung aus IFN-Signatur und B-Zell-Abnormitäten und verstärken somit die These, durch pharmakologische Modulation bzw. Hemmung von IFN- bzw. JAK-STAT-Signalwegen, letztendlich auch zur Reduktion der Krankheitsaktivität bei Lupus beitragen zu können.

6 METHODIK

6.1 Studienpopulation

Insgesamt wurden Blutproben von 22 Patienten mit SLE, 10 mit Rheumatoider Arthritis (RA), 7 mit Primärem Sjögren Syndrom (pSS) und 21 gesunden Probanden (HD) gesammelt (je nach Protokoll in EDTA oder Heparin Röhrchen, "BD Vacutainersystem, BD diagnostics, Franklin Lakes, NJ, U.S.). Die Patienteninformationen sind in Tab.1 dargestellt. Die Krankheitsaktivität ermittelten wir mithilfe der gängigen klinischen *Scoring-* bzw. Klassifikationssystemen – im Speziellen SLEDAI-2K für SLE [20], *Disease Activity Score 28* (DAS28) für RA [21] und *EULAR Sjögren's Syndrome Disease Activity Index* (ESSDAI) für pSS [22]. Alle Patienten und gesunden Probanden gaben uns ihre schriftliche Einwilligung zur Studienteilnahme basierend auf einem Ethikvotum (EA1/009/17) der Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin.

6.1 Tab.1 Studienpopulation

HD	n = 21
Geschlecht	18 weiblich, 3 männlich
Alter	32 [22 - 59]
SLE	n = 22
Geschlecht	19 weiblich, 3 männlich
Alter	42 [25 – 73]
SLEDAI	12 niedrig (<6), 10 hoch (>6)
RA	n = 10
Geschlecht	8 weiblich, 2 männlich
Alter	61 [47 – 77]
DAS28	6 niedrig (<3.2), 0 moderat (3.2-5.1), 4 hoch (>5.1)
pSS	n = 7
Geschlecht	7 weiblich, 0 männlich
Alter	60 [44 – 77]
ESSDAI	6 niedrig (<4), 1 hoch (>4)

Modifizierte Tabelle aus Aue et al, Rheumatology (Oxford) 2020 [1]

6.2 Antikörperliste

Für die Färbungen wurden folgende Antikörper genutzt:

Anti-CD3-PB (Klon UCHT1), Anti-CD4-Alexa488 (Klon RPA-T4), Anti-CD14-APCH7 (Klon MOP9), Anti-CD19-PECy7 (Klon SJ25C1), Anti-CD27-APC (Klon L128), Anti-CD27-FITC (Klon M-T271), Anti-IFN γ R-PE (CD119, Klon GIR-208) von BD Pharmingen und Anti-STAT1-PE (N-Terminus, Klon 1/Stat1), Anti-phospho-STAT1-Alexa488 (pY701, Klon 4a) und Anti-phospho-STAT3-PE (pY705, Klon 4/P-STAT3,) von BD Phosflow (alle von BD Biosciences, San Jose, CA, USA).

Mouse IgG1 κ PE; IgG2 α k FITC und IgG2b PE wurden als Isotyp-Kontrollen genutzt. Anti-CD4-PerCp (Klon SK3), Anti-CD14-APCCy7 (Klon M5E2), Anti-CD20-BV510 (Klon 2H7), Anti-CD27-PerCP (Klon O323) und Anti-Siglec-1-APC (CD169, Klon 7-239) wurden von BioLegend (San Diego, CA, USA) erworben. Anti-IFN α R-APC (Klon REA 124) wurde von MACS Miltenyi Biotec (Bergisch Gladbach, NRW, Germany) und Anti-STAT3-FITC (Met1-Asn175, clone 232209) von Thermo Fisher (Waltham, MA, USA) genutzt.

6.3 Durchflusszytometrie

Die durchflusszytometrische Analyse aller im Rahmen dieser Studie ausgewerteten Proben erfolgte über einen BD FACS Canto II (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA). Im Rahmen der Qualitätskontrolle erfolgte die Erfassung der Messwerte von Patienten immer zusammen mit mindestens einer HD-Probe, um über die gesamte Studienzeit möglichst konstante bzw. vergleichbare Bedingungen in allen Kohorten zu garantieren. Zur Gewährleistung technisch stabiler Untersuchungsbedingungen im Hinblick auf die gemessenen *Median Fluorescence Intensity* (MFI) – Werte, wurden sog. *Cytometer Setup and Tracking beads* (CST beads, BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA) und *Rainbow Calibration Particles* (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA) eingesetzt. Die Proben, die direkt als Vollblut analysiert wurden, wurden noch am Entnahmetag gemessen. Die Analyse der als periphere mononukleäre Zellen (PBMCs) aufbereiteten Proben erfolgte gemäß Protokoll erst am Folgetag.

6.4 Siglec-1 (CD169) Expression von Monozyten

Die Analyse des auf der Zelloberfläche von CD14+ Monozyten befindlichen Siglec-1 (CD169) erfolgte durchflusszytometrisch, wie auch schon zuvor publiziert [6]. 200 μ l frisches Vollblut wurde hierfür mit 2 ml BD Pharm Lyse (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA) für 15 min unter Raumtemperatur (RT) lysiert. Anschließend erfolgten

zwei Waschschritte mit 3 ml PBS/0,5% BSA/EDTA (autoMACS Rinsing solution/MACS BSA stock solution, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, NRW, Germany, Zentrifuge: 310 xg, 5 min, 4°C). Im letzten Schritt vor der Färbung erfolgte ein sog. *Fc-Receptor Block* (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, NRW, Germany; 5 min, RT), um unspezifische Bindungen zu reduzieren. Für die Immunphänotypisierung wurden folgende Antikörper genutzt: Anti-CD3-PB, Anti-CD19-PECy7, Anti-CD20-BV510, Anti-CD27-FITC, Anti-CD14-APCH7 und Anti-Siglec-1-APC (15 min, 4°C). Nach einem weiteren Waschschritt und der Hinzugabe von DAPI (4',6-Diamidin-2-phenylindol) (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA, 1 µl von 300nM), um bereits abgestorbene Zellen auszuschließen, erfolgte die zeitnahe durchflusszytometrische Analyse.

6.5 Expression von STAT1 und STAT3 in B- und T-Zellen

Frisches Vollblut (200 µl) wurde mit *BD Phosflow Lyse/Fix Buffer* (BD Biosciences, San Jose, CA, USA) für 10 min bei 37°C lysiert und anschließend zwei Waschschritten mit eiskaltem *PBS Dulbecco* (Biochrom GMBH, Berlin, Germany) unterzogen (Zentrifugation 530 xg, 8 min, 4°C). Im nächsten Schritt erfolgte die Permeabilisierung der Zellmembran, um die Färbung intrazellulärer Proteine zu ermöglichen. Hierfür wurde *Perm Buffer III* (BD Biosciences, San Jose, CA, USA, 30 min, auf Eis) genutzt. Anschließend erfolgten zwei Waschschritte mit *PBS Dulbecco* angereichert mit Fetalem Kalbserum (FCS, Biowest, Nuaille, France) (530 xg, 8 min, 4°C). Im nächsten Schritt wurden die Zellen in 50 µl PBS/0,5% BSA und 10 µl *Brilliant Buffer* (BD Horizon, San Jose, CA, USA) resuspendiert und auch hier erfolgte ein *FcR-Block* (FcR blocking reagent, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, NRW, Germany).

Für die Färbung wurden folgende Antikörper eingesetzt:

Anti-CD14-APCCy7, Anti-CD3-PB, Anti-CD4-PerCp, Anti-CD19-PECy7, Anti-CD20-BV510 und Anti-CD27-APC (BD Pharmingen, San Jose, CA, USA) für die grundlegende Immunphänotypisierung nach aktuellen Richtlinien [23] beispielhaft dargestellt in Abb. 6-1 und die Kombination aus Anti-STAT1-PE/Anti-p-STAT1-FITC oder Anti-STAT3-FITC/Anti-p-STAT3-PE für 1 Stunde. Es erfolgte die durchflusszytometrische Analyse für STAT1, pSTAT1, STAT3 und pSTAT3 MFIs in CD3+CD4-, CD3+CD4+, CD20+CD27-, CD20+CD27+ und CD20^{low}CD27^{high} Zellen.

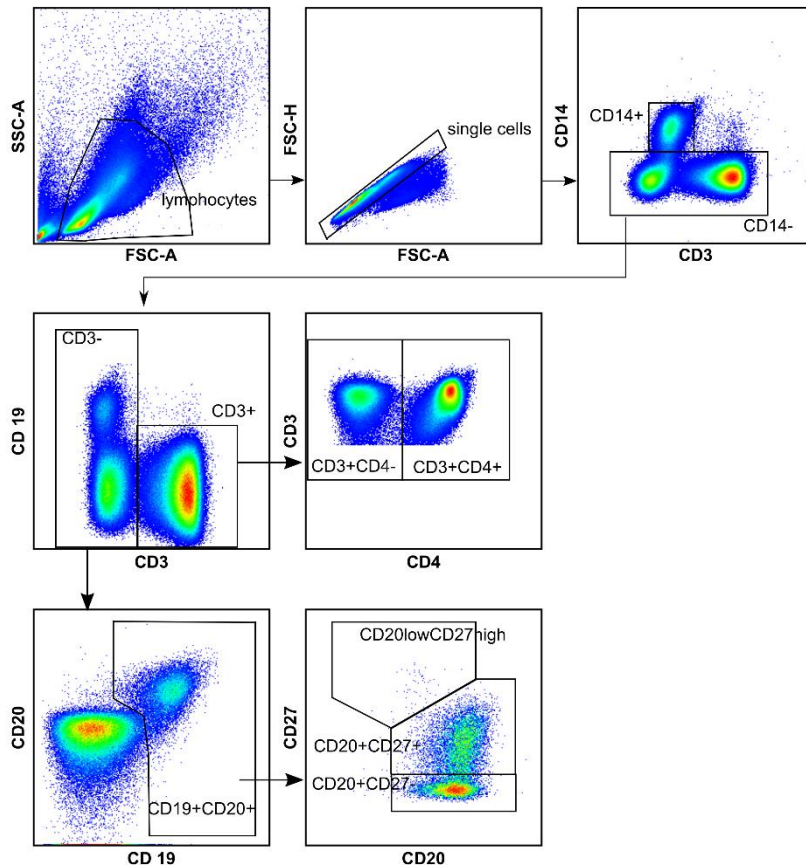


Abb. 6-1 „Gating-Strategie“ Die Identifizierung der Lymphozyten erfolgt mittels *Forward versus Side Scatter* (FSC vs. SSC) *Plot*, gefolgt von Dubletten-Ausschluss im FSC-H (H, *Height*) gegen FSC-A (A, *Area*). Monozyten wurden als CD3- CD14+ *Events gated*. CD14-, CD19-, CD3+ Zellen wurden weiter differenziert in CD4- und CD4+ T-Zellen. Die CD19+ Population wurde mithilfe von CD20 und CD27 in naive (CD19+ CD20+ CD27-), *memory* (CD19+ CD20+ CD27+) B-Zellen und Plasmablasten (CD20low CD27high) diskriminiert. Originalabbildung aus Aue et al, *Rheumatology* (Oxford) 2020 [1]

Der *Forward versus Side scatter Plot* (FSC vs. SSC) ermöglicht bei der Immunphänotypisierung die gewünschten Zellpopulationen anhand von Größe und Granularität (Komplexität) zu identifizieren. Somit können im ersten Schritt Lymphozyten detektiert werden. Als nächstes werden sog. Dubletten ausgeschlossen, da diese Ergebnisse signifikant verfälschen können. Hierfür wird konventioneller Weise der FSC-H (H, *Height*) gegen FSC-A (A, *Area*) *Plot* verwendet. Für die Phänotypisierung von Monozyten (u.a. für die Analyse von Siglec-1, CD169) erfolgte die Differenzierung von CD14+ Zellen gegen CD14- und CD3+/- . Die CD3+ Population wurde anschließend von der CD19+ differenziert und als CD3+CD4- bzw. CD3+CD4+ T-Zellen analysiert. Die CD19+ Population wurde mithilfe von CD20- und CD27- Oberflächenantigenen in B-Zellen diskriminiert: Naive (CD19+ CD20+ CD27-),

memory (CD19+ CD20+ CD27+) und Plasmablasten als CD20 *low* - also niedrig – und CD27 *high* - also hoch.

6.6 Gewinnung von PBMCs aus Vollblut

PBMCs wurden mithilfe von Dichtegradientenzentrifugation aus Vollblut extrahiert. Hierfür wurde Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare Bio-Sciences, Chicago, IL, USA) genutzt. Dabei wurde Vollblut 1:1 verdünnt in PBS über Ficoll-Paque PLUS geschichtet und bei RT für 20 min bei 1800 rpm ohne Bremse zentrifugiert. Anschließend erfolgten zwei Waschschriffe (1400 rpm, 10 min, RT) und die Zellzahlbestimmung mittels eines Horiba ABX Micros 60 (Horiba, Kyoto, Japan).

6.7 IFN-Rezeptorexpression von Monozyten und Lymphozyten

PBMCs wurden mit PBS/0.5% BSA/EDTA (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, NRW, Germany) gewaschen und FcR-Blocking-Reagenz (Miltenyi Biotec Bergisch Gladbach, NRW, Germany) hinzugefügt.

Das *Staining* erfolgte mit Anti-CD19-PECy7, Anti-CD20-BV510, Anti-CD27-PerCP, Anti-CD3-PB, Anti-CD4-Alexa488, Anti-CD14-APCH7, Anti-IFN α -APC, Anti-IFN γ -PE (CD119) und zusätzlich 10 μ l *Brilliant Buffer* (BD Horizon, San Jose, CA, USA) pro 50 μ l Zellsuspension für 15 Minuten. Die Immunphänotypisierung erfolgte wie oben angeführt (Abb. 6-1).

6.8 Funktionelle Analyse von IFN α und IFN γ Signalwegen

Die isolierten PBMCs wurden in RPMI (GlutaMAX, Life Technologies, Paisley, Scotland) suspendiert und mit IFN α (100 ng/ml) (Recombinant Human, PBL assay science, Piscataway, NJ, USA), IFN γ (10 ng/ml) (Recombinant Human, PeproTech, Rocky Hill, NJ, USA) oder kombiniert für 5 Minuten stimuliert.

Die 48h-Langzeitinkubation erfolgte in Zellkultur, in welcher Medium (RPMI, 10% Fetal Bovine Serum und 1% Penicillin/Streptomycin, Gibco by lifetechnologies/Thermo Fisher, Paisley, Scotland) mit IFN α , IFN γ bzw. kombiniert (jeweils 5 ng/ml) eingesetzt wurde. Geeignete Zeitpunkte sowie Konzentrationen für die Stimulationen wurden anhand repräsentativer Kinetikkurven und Etablierungsexperimenten in Zellkultur ermittelt (Abb. 10-1-3). Die Zellen wurden anschließend geerntet, gewaschen und mit

den bereits beschriebenen *Stainings* für STAT gefärbt und mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Zur weiteren Untersuchung der pharmakologischen Beeinflussung dieser Signalwege wurden PBMCs in Zellkultur mit Fludarabin (100 µM nach Empfehlung des Herstellers) gelöst in Dimethylsulfoxid (DMSO) und als Kontrolle nur in DMSO für 48h inkubiert.

6.9 Statistische Auswertung

Durchflusszytometrische Daten wurden mithilfe von *FACSDiva-Software* (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) und *FlowJo-Software* (Version 10, TreeStar, Ashland, OR, USA) ausgewertet. Für die graphische sowie statistische Analyse wurden *GraphPad Prism* (version 7.00, GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) und *Excel* (Microsoft Excel 2016, Redmond, WA, USA) eingesetzt. Der sog. Mann-Whitney Test wurde für den Vergleich zweier untersuchter Gruppen angewandt. Für die Analyse multipler Patientengruppen erfolgte der sog. Kruskal-Wallis post-hoc Dunn's Test. Der Spearman-Korrelations-Koeffizient wurde für die Identifizierung möglicher signifikanter Assoziationen zwischen Parametern bzw. Krankheitsaktivitäts-Scores eingesetzt. P-Werte von < 0.05 wurden als signifikant gewertet.

7 ERGEBNISSE

7.1 Signifikant erhöhte STAT1-Gesamtexpression in SLE B- und T-Zellen

STAT1 und STAT3 in ihren intrazellulären Proteinspiegeln, sowie in ihrem aktivierten bzw. phosphorylierten Zustand wurden untersucht. Hierfür wurde die totale Expression von STAT1 über Messung einer Bindung am N-Terminus und die Phosphorylierung über die Bindungsstelle pY701 und von STAT3 über die Bindung an Met1-Asn175 und pY705 detektiert. Diese Untersuchungen wurden bei SLE-, RA- und pSS-Patienten und HD durchgeführt und konventionelle naive (CD20⁺CD27⁻) und *Memory* B-Zellen (CD20⁺CD27⁺), Plasmablasten (PB) (CD20^{low}CD27^{high}) sowie CD3⁺CD4⁺ und CD3⁺CD4⁻ T-Zellen analysiert.

Hierbei zeigten sich hochgradig signifikant erhöhte STAT1-Proteinspiegel in allen untersuchten B-Zell-Subpopulationen – also in naiven-, *Memory* B-Zellen sowie Plasmablasten von Lupus-Patienten im Vergleich zu HD (Abb. 7-1), aber auch im Vergleich zu den anderen untersuchten Autoimmunerkrankungen. Patienten mit RA

und pSS zeigten bezüglich STAT1 eine ähnliche Expression wie gesunde Spender (Abb. 7-2). Interessanterweise zeigte sich pSTAT1 lediglich in naiven SLE-B-Zellen signifikant erhöht.

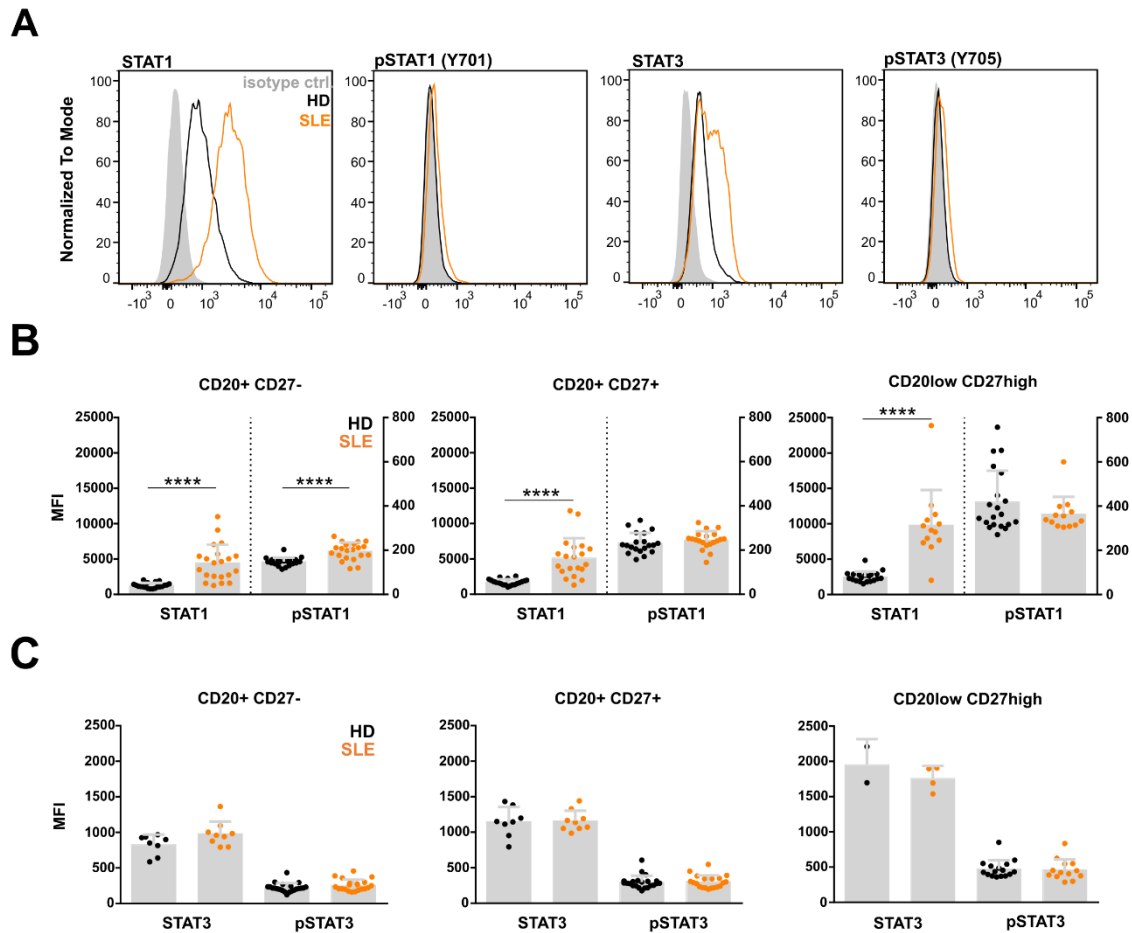


Abb. 7-1 STAT1- und STAT3-Expression in B-Zellen von HD und SLE (A) Repräsentative Histogramme der basalen Spiegel von STAT1, pSTAT1, STAT3 und pSTAT3 in CD19+ B-Zellen von SLE-Patienten (orange), HD (schwarz) und die jeweiligen Isotypkontrollen (grau). **(B)** Expression von STAT1 und pSTAT1 bzw. **(C)** STAT3 und pSTAT3 in CD20+CD27-, CD20+CD27+ und CD20*low*CD27*high* B Zell-Subpopulationen von SLE (orange) verglichen mit HD (schwarz). Mann-Whitney-Test; ****P≤0.0001. Originalabbildung aus Aue et al, Rheumatology (Oxford) 2020 [1]

Erhöhte STAT1-Spiegel fanden sich auch in T-Zellen (CD3+ CD4+/-) der SLE-Patienten (Abb. 7-2), übereinstimmend mit bereits publizierten Daten [24].

Für STAT3 zeigten sich bezüglich basaler Proteinexpression leicht erhöhte Werte, insbesondere in T-Zellen von Lupus-Patienten (Abb. 7-2, F), jedoch weitestgehend vergleichbare Level bezüglich der basalen Phosphorylierung aller untersuchter Kohorten in den jeweiligen Zellpopulationen (Abb. 7-2).

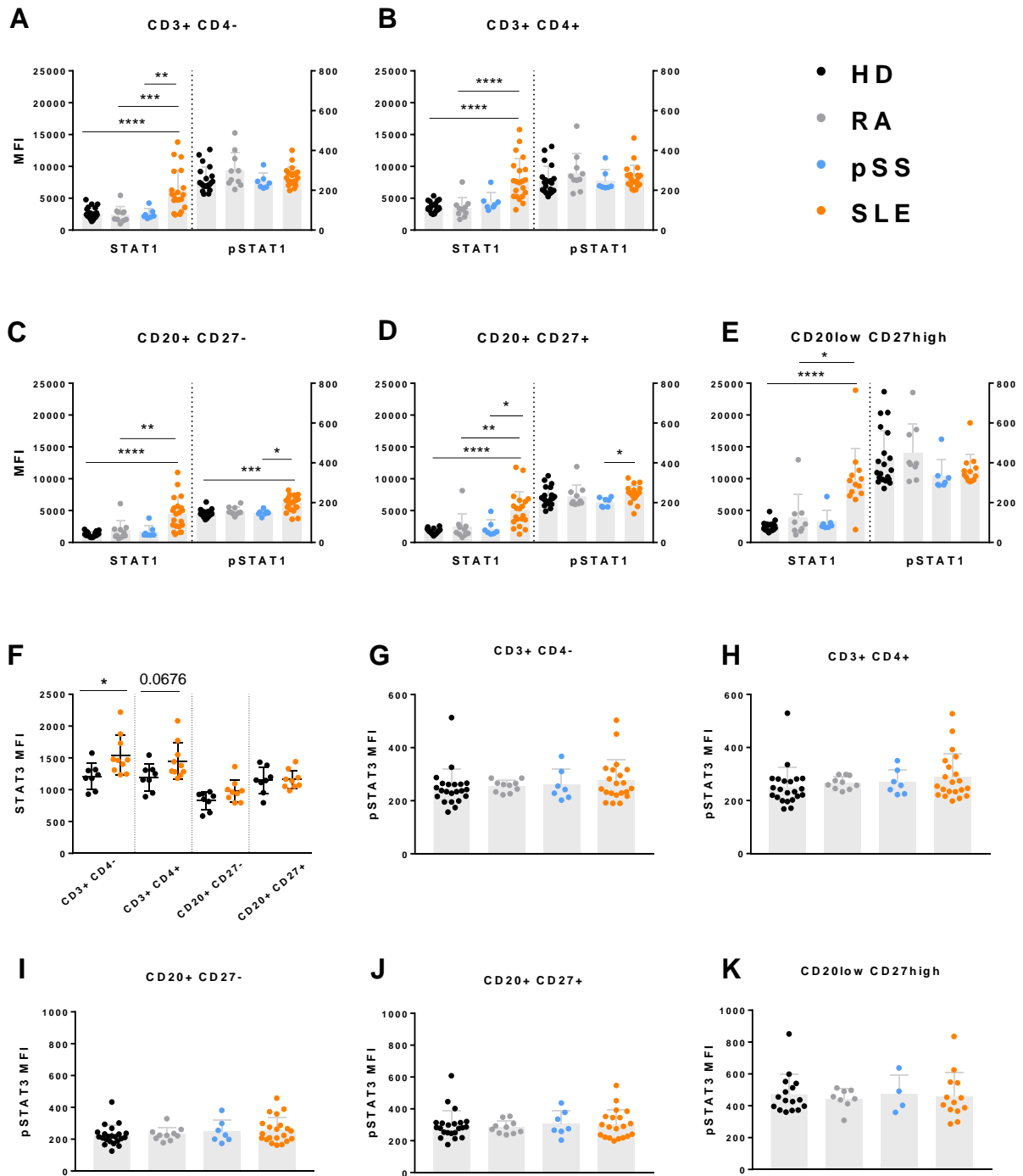


Abb. 7-2 Gesamtübersicht der STAT1- und STAT3-Expression in B- und T-Zellen aller untersuchter Gruppen (A - E) STAT1, pSTAT1 und (F – K) STAT3 und pSTAT3 in B- und T- Zell Subpopulationen von HD (schwarz) und Patienten mit RA (grau), pSS (blau), SLE (orange). Mann-Whitney-Test für 2 Gruppen bzw. Kruskal-Wallis für multiple Gruppen; *P≤0.05, **P≤0.01, *P≤0.001, ****P≤0.0001. Modifizierte Abbildung aus Aue et al, Rheumatology (Oxford) 2020 [1]**

7.2 STAT1-Expression korreliert mit IFN-Signatur und Lupusaktivität

Im nächsten Schritt wurde untersucht, ob die erhöhten basalen STAT1-Spiegel, im Kontext zur Krankheitsaktivität der Patienten mit SLE stehen. Hier zeigte sich für alle untersuchten B- (Naive: CD20+CD27 ($P < 0.0001$, $r = 0.8766$); *Memory*: CD20+CD27+ ($P < 0.0001$, $r = 0.8556$); Plasmablasten: CD20*low*CD27*high* ($P < 0.0001$, $r = 0.9396$)) sowie T-Zell-Subpopulationen (T-Zellen: CD3+CD4- ($P < 0.0001$, $r = 0.8455$) und CD3+CD4+ ($P = 0.0001$, $r = 0.8039$)) eine signifikante Korrelation der intrazellulären STAT1-Spiegel zur Expression von Siglec-1 (CD169) auf der Zelloberfläche von CD14+ Monozyten (Abb. 7-3). Somit besteht ein eindeutiger Kontext zwischen gesteigerter Interferonsignatur, Krankheitsaktivität und STAT1-Expression in Lymphozyten. Des Weiteren korrelierten die STAT1-Daten in B- und T-Zellen auch mit den SLEDAI-2K Werten der Patienten, womit der Zusammenhang zur rein klinischen Aktivität der Erkrankung ebenfalls deutlich wird (Abb. 7-3).

7.3 Induktion von pSTAT1 nach IFN α -Stimulus in SLE-Plasmablasten

Um die erhöhten intrazellulären STAT1-Werte in SLE-Lymphozyten und -Monozyten (Daten nicht angezeigt) auch in einen funktionellen Kontext zu setzen, wurden Veränderungen in der Aktivierung bzw. Phosphorylierung von STAT1 und STAT3 nach kurzzeitiger (5 min) Stimulation mit Typ I (α) und Typ II (γ) IFN untersucht. Die individuelle Differenz aus basaler Phosphorylierung (5 min RPMI) und jener nach Stimulus ist in Abb. 7-4 dargestellt. Hierbei zeigte sich insbesondere eine signifikante Steigerung in der STAT1-Aktivierung von SLE-Plasmablasten nach Inkubation mit IFN α . In Kontrast dazu löste IFN γ einen deutlich erhöhten Anstieg von pSTAT1 in CD14+ Monozyten von Lupus-Patienten aus, wie bereits in der Literatur beschrieben wurde [25]. Für pSTAT3 fand sich stattdessen eine gewisse Tendenz zu geringerer Aktivierung der SLE-Zellpopulationen nach Stimulation mit Typ I IFN im Vergleich zur Aktivierung bei HD.

Um einen möglichen Einfluss unterschiedlicher Dichteverhältnisse der IFN-Rezeptoren auf der Zelloberfläche als Ursache für eine veränderte Signaltransduktion zu detektieren, wurde in einem nächsten Schritt die Expression der IFN α - und IFN γ -Rezeptoren (IFNAR, IFNGR) auf allen dargestellten Zellpopulationen analysiert. Hierbei fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen HD und SLE-Patienten (Abb. 7-5).

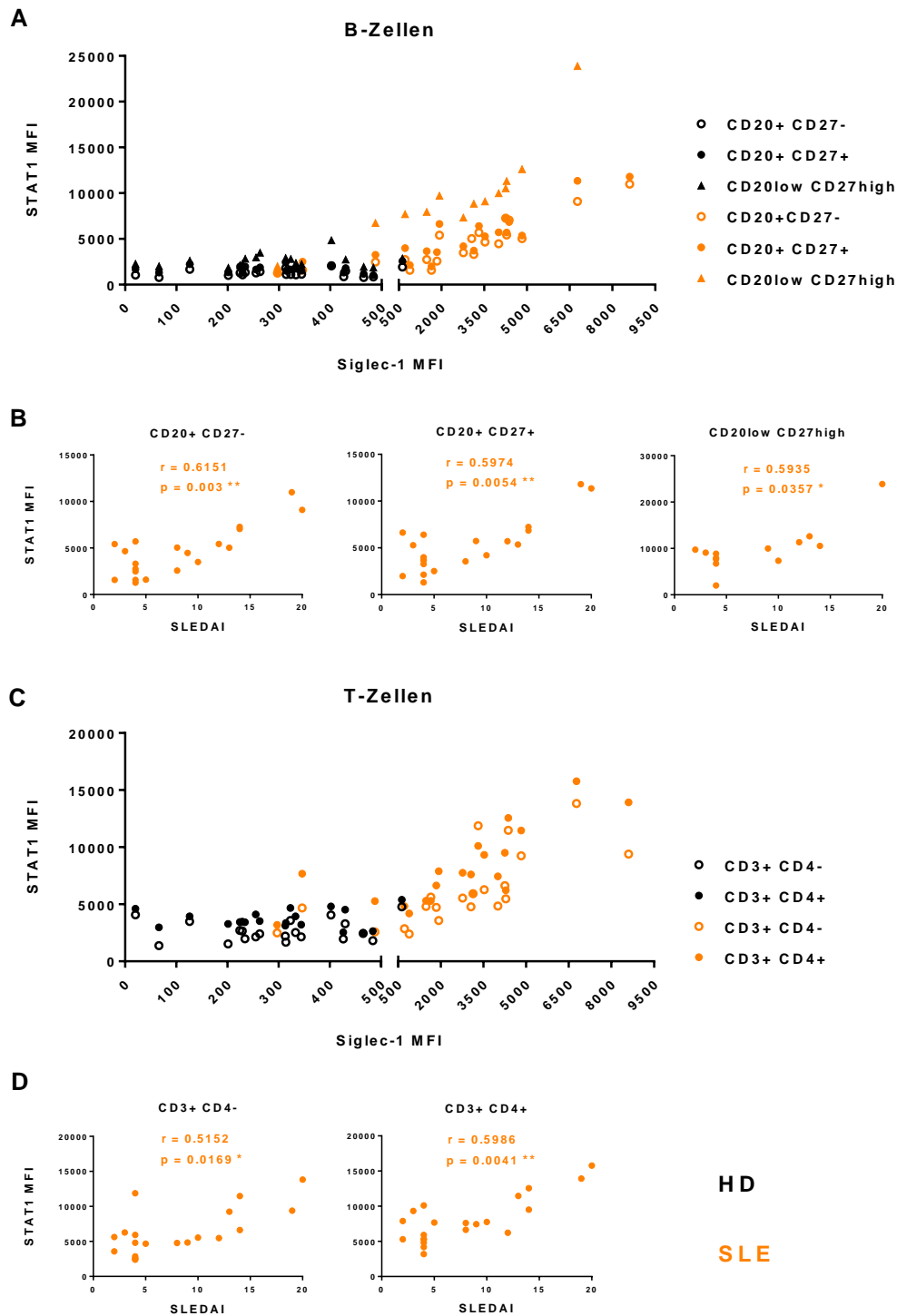


Abb. 7-3 Erhöhtes STAT1 in SLE-Lymphozyten korreliert mit Siglec-1 und SLEDAI Korrelation von STAT1-Expression in **(A)** CD20+CD27- naiven ($P < 0.0001$, $r = 0.8766$), CD20+CD27+ *memory* ($P < 0.0001$, $r = 0.8556$) und CD20lowCD27high ($P < 0.0001$, $r = 0.9396$) B-Zellen sowie **(C)** CD3+CD4- ($p < 0.0001$, $r = 0,8455$) und CD3+CD4+ ($p = 0.0001$, $r = 0,8039$) T-Zellen von SLE-Patienten (orange) und im Vergleich HD (schwarz) mit Siglec-1 (CD169) und **(B+D)** mit den jeweiligen SLEDAI-2K Werten. Spearman-Koeffizient (r) wurde ermittelt um Korrelationen zu detektieren. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$, **** $P \leq 0.0001$. Modifizierte Abbildung aus Aue et al, Rheumatology (Oxford) 2020 [1]

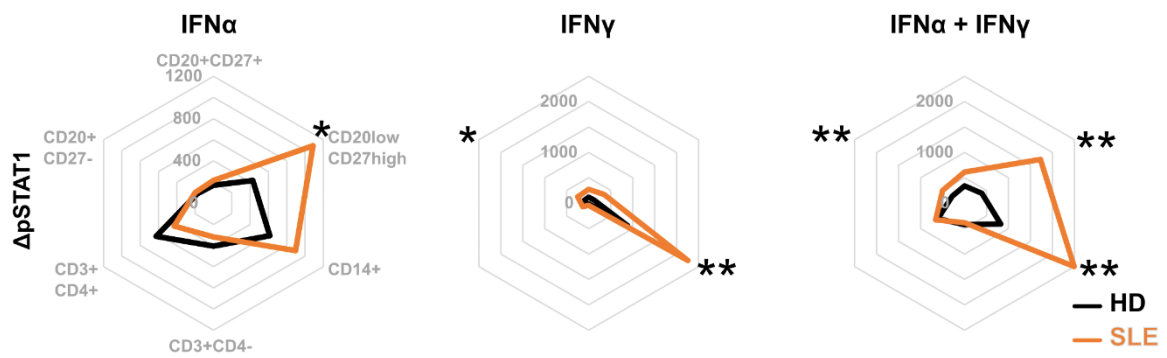
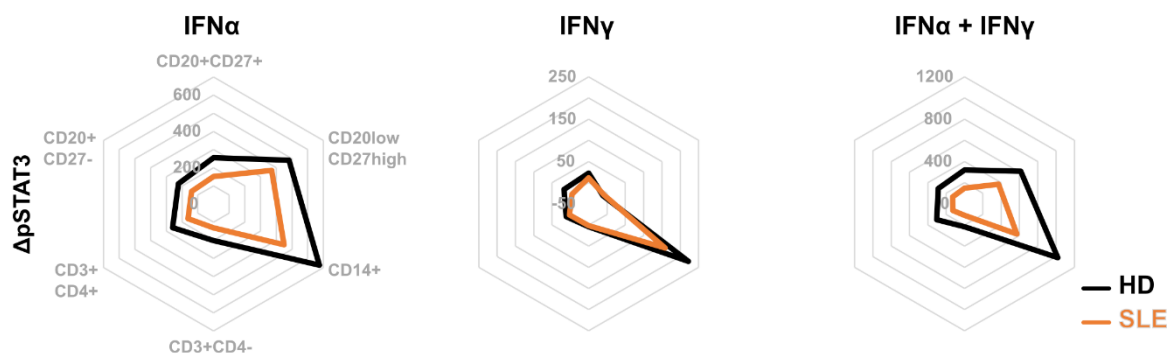
A**B**

Abb. 7-4 Gesteigerte pSTAT1-Aktivierung in SLE-Plasmablasten nach Stimulation mit IFN α
 PBMCs von 6 HD (schwarz) und 6 Patienten mit SLE (orange) wurden mit IFN α , IFN γ oder in Kombination für 5 Minuten inkubiert. **(A)** pSTAT1- oder **(B)** pSTAT3-Werte der unstimulierten Kontrollen (5 min RPMI) wurden von den stimulierten Proben subtrahiert, um den individuellen Anstieg der Phosphorylierung zu identifizieren. STAT1- und STAT3-Phosphorylierung in CD3+CD4-, CD3+CD4+, CD20+CD27-, CD20+CD27+, CD20lowCD27high und CD14+ Zellen wurde analysiert. Mann-Whitney-Test. *P \leq 0.05, **P \leq 0.01. Modifizierte Abbildung aus Aue et al, Rheumatology (Oxford) 2020 [1]

7.4 Reduzierter STAT1-Proteinanstieg nach 48h Inkubation mit IFN

Um einen Langzeiteffekt von Typ I und II IFN auf B- und T-Zellen zu simulieren, wurden jeweils 6 PBMC-Proben von den bereits untersuchten HD und SLE-Patienten mit IFN α bzw. IFN γ und als Kontrolle mit Medium für 48 Stunden in Zellkultur inkubiert. Hierbei zeigte sich insbesondere in CD20+CD27- und CD20+CD27+ B-Zellen von Lupus-Patienten im Vergleich zu gesunden Spendern eine Tendenz zu niedrigeren STAT1-Proteinspiegeln nach IFN-Inkubation – trotz der initial erhöhten Expression (Abb. 7-6).

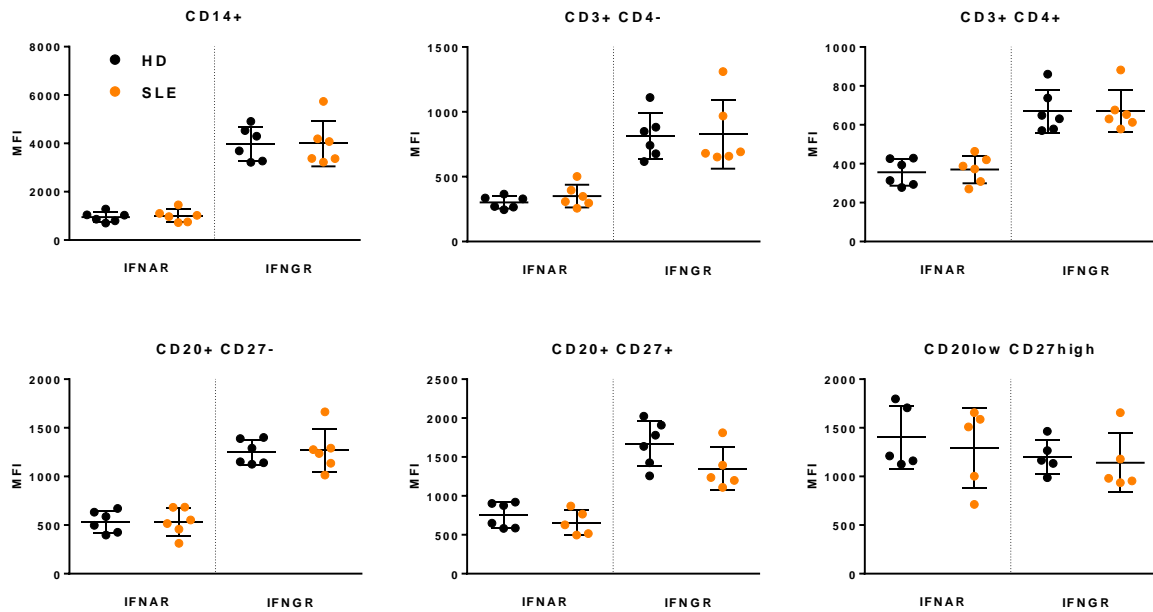


Abb. 7-5 Oberflächliche Expression von Interferonrezeptoren PBMCs der 6 HD und 6 SLE-Patienten wurden vor Stimulation auf basale Expression der korrespondierenden IFN-Rezeptoren an der Oberfläche von B- und T-Zellen sowie Monozyten untersucht. IFN α - und IFN γ -Rezeptor (IFNAR, IFNGR). Keine signifikanten Unterschiede. Mann-Whitney-Test. Originalabbildung Aue et al, Rheumatology (Oxford) 2020 [1]

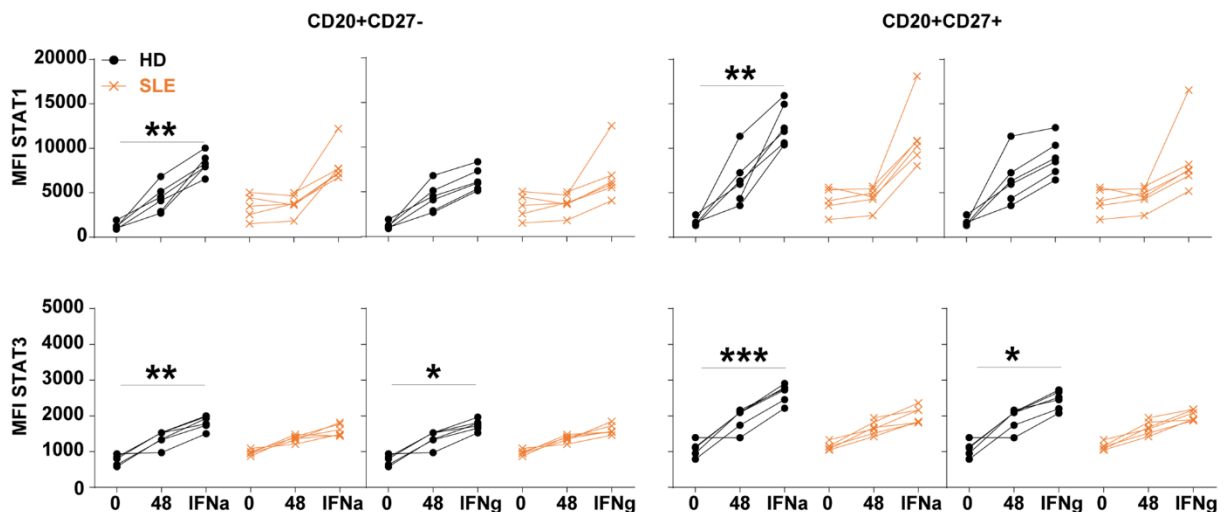


Abb. 7-6 Langzeitinkubation von PBMCs mit Typ I und II IFN PBMCs von 6 HD und 6 SLE-Patienten wurden für 48h mit IFN α oder IFN γ inkubiert und B-Zellen auf deren STAT1 bzw. STAT3 Proteinexpression untersucht. 0, Tag 1; 48, Mediumkontrolle; Mann-Whitney-Test, *P \leq 0.05, **P \leq 0.01, ***P \leq 0.001, ****P \leq 0.0001. Originalabbildung aus Aue et al, Rheumatology (Oxford) 2020 [1]

In T-Zellen (Daten nicht angezeigt) waren diese Dynamiken zwischen den untersuchten Gruppen relativ vergleichbar. Die STAT3-Proteinlevel entwickelten sich in dieser Zellkulturstimulation zwischen SLE und HD ebenfalls ähnlich. Bei der Analyse von pSTAT1 und pSTAT3 zeigten sich in diesem experimentellen Setting insgesamt ähnliche Ergebnisse (Daten nicht angezeigt).

In diesem Langzeitstimulations-Modell wurde auch die Siglec-1 (CD169) Expression auf CD14+ Monozyten nach 48 Stunden Inkubation mit IFN Typ I und II untersucht. Hierbei zeigte sich eine signifikant erhöhte Expression von Siglec-1 auf CD14+ Zellen von SLE-Patienten nach 48-stündiger Stimulation mit 5 ng/ml IFN α (Abb. 7-7).

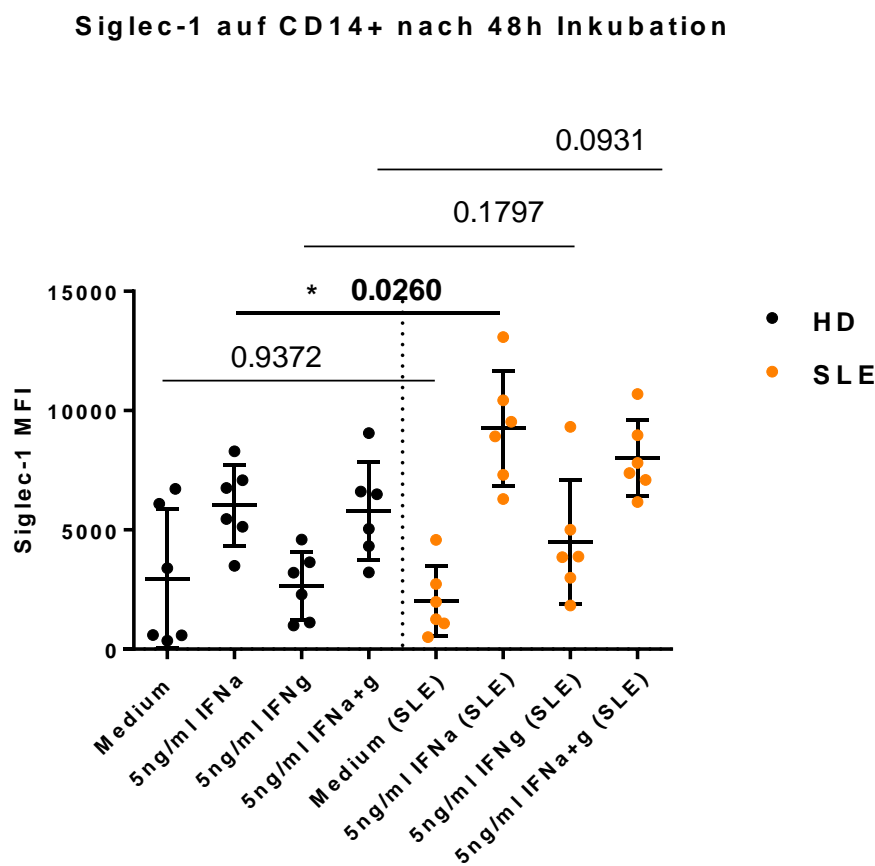


Abb. 7-7 Siglec-1 Expression nach 48h Inkubation mit Typ I und II IFN PBMCs von 6 HD und 6 SLE-Patienten wurden nach 48h Inkubation mit IFN α , IFN γ oder kombiniert nach Siglec-1 (CD169) Expression auf der Oberfläche von CD14+ Monozyten untersucht. Mann-Whitney Test. *P \leq 0.05. Eigene Abbildung von Originaldaten (kein Bestandteil der Publikation).

7.5 Pharmakologische Beeinflussung von STAT1 in vivo und in vitro

Um zu demonstrieren wie und ob diese erhöhten intrazellulären STAT1-Spiegel pharmakologisch moduliert werden können, wurden B- und T-Zellen eines neu diagnostizierten und unbehandelten SLE-Patienten untersucht. Hierbei fand sich interessanterweise ein deutlicher Abfall der intrazellulären STAT1-Proteinlevel für alle untersuchten Zellpopulationen nach Stoßtherapie mit Prednisolon für zwei Tage mit jeweils 75 mg (Abb. 7-8). Glukokortikoide können also die STAT1-Expression reduzieren.

Erstdiagnose SLE ohne Therapie nach 2 x 75 mg Prednisolon

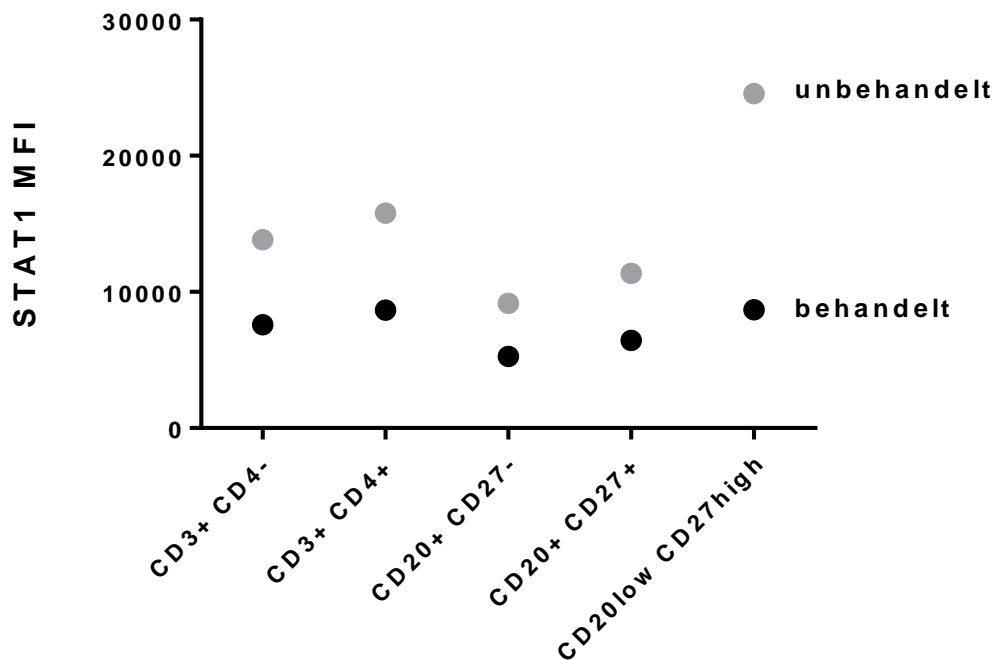


Abb. 7-8 STAT1-Reduktion unter Glukokortikoidgabe in vivo STAT1 in B- bzw. T-Zell-Subpopulationen eines erstdiagnostizierten, bisher nicht therapierten SLE-Patienten vor und nach Glukokortikoid-Stoßtherapie mit zwei Gaben von 75mg Prednisolon über 2 Tage. Modifizierte Abbildung aus Aue et al, Rheumatology (Oxford) 2020 [1]

Als nächstes erfolgten Versuche auch in vitro die Proteingestamtexpression zu modulieren. Hierfür wurde Fludarabin, ein Zytostatikum das v.a. in der Chemotherapie bei Lymphomen eingesetzt wird, und dafür bekannt ist STAT1 zu inhibieren genutzt

[26]. Es wurde in einer Konzentration von 100 μM (Empfehlung des Herstellers) in Zellkultur eingesetzt und PBMCs von HD und SLE für 48 Stunden inkubiert. Hierbei zeigte sich eine Reduktion von STAT1 und STAT3 in B- und T-Zellen (Abb. 7-9), wobei sich insgesamt auch deutlich die Zellzahl reduzierte (insb. CD27+ B-Zellen).

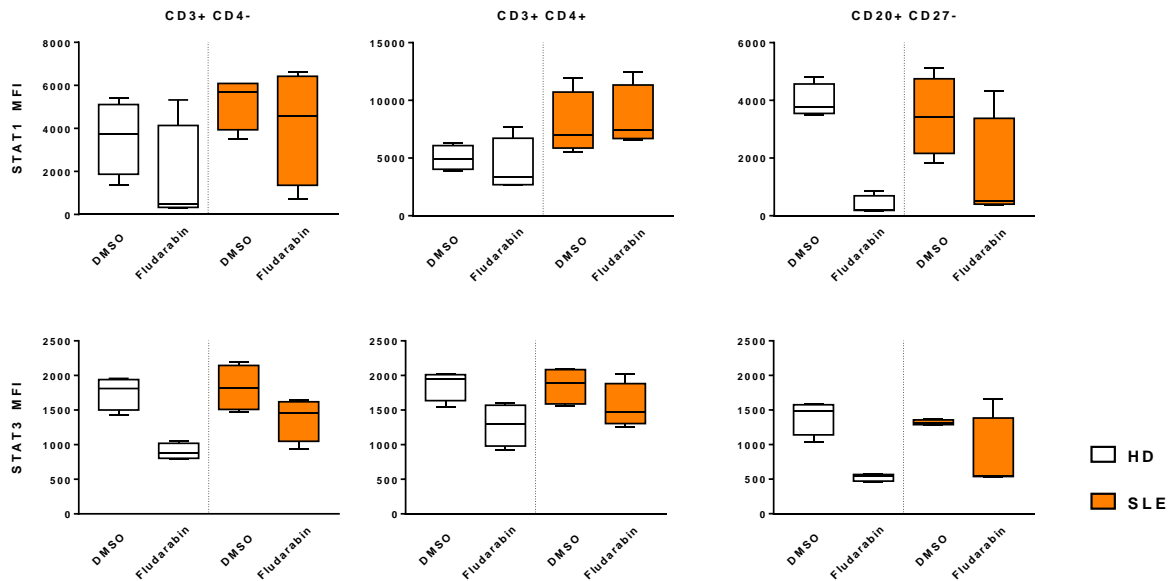


Abb. 7-9 STAT1- und STAT3-Expression nach 48h Inkubation mit Fludarabin PBMCs von 4 HD und 4 SLE-Patienten wurden mit Fludarabin gelöst in DMSO (100 μM) und nur DMSO (Kontrolle) für 48h in Zellkultur inkubiert. Eigene Abbildung von Originaldaten (kein Bestandteil der Publikation).

8 DISKUSSION

Diese Studie untersuchte STAT1 und STAT3, welche im Kontext der sogenannten Interferonsignatur und den damit einhergehenden intrazellulären Signalwegen insbesondere bei SLE pathophysiologisch von Bedeutung erscheinen. Hierbei zeigten sich signifikant erhöhte Gesamtproteinspiegel von STAT1 in B- und T-Zellen von Patienten mit SLE im Vergleich zu den Kontrollgruppen mit RA und pSS sowie HD, während pSTAT1 nur in naiven B-Zellen erhöht war. Die Daten weisen auf den Einfluss von IFN und eine erhöhte transkriptionelle Aktivität von STAT1 in den Lymphozyten bei SLE hin. Keine Unterschiede ließen sich für STAT3 sowie pSTAT3 zwischen SLE und HD ableiten.

Diese erhöhten STAT1-Werte korrelierten sowohl mit Siglec-1 (CD169), einem Biomarker und Surrogatparameter für IFN-Signatur auf CD14+ Monozyten und Indikator für Lupusaktivität, sowie mit dem klinischen Krankheitsaktivitätsscore SLEDAI-2K. Somit stehen die erhöhten STAT1-Spiegel in B-Zellen im Zusammenhang mit der SLE-Aktivität.

Es fanden sich keine signifikant veränderten Werte bezüglich basaler STAT1-Proteinexpression in den Lymphozyten von Patienten mit RA und pSS. Speziell bei pSS zeigte sich jedoch ein Patient mit erhöhtem Siglec-1, deutlicher Krankheitsaktivität und STAT1-Spiegeln weit über denen des Durchschnitts der restlichen Kohorte (Abb. 7-2). Daher ist davon auszugehen, dass aufgrund der niedrigen Anzahl an untersuchten pSS-Patienten in dieser Studie und im Speziellen derer mit deutlicher IFN Typ I Signatur, weitere diesbezügliche Analysen erforderlich sind.

In funktionellen Untersuchungen konnte zudem demonstriert werden, wie sich STAT1 in B- und T-Zellen sowie Monozyten von Patienten mit SLE nach Stimulation mit Typ I und II IFN verändert. Hierbei zeigte sich erstmalig beschrieben eine gesteigerte pSTAT1-Aktivierung nach kurzzeitigem Stimulus mit IFN α in Plasmablasten (CD20 low CD27 $high$) von SLE-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden. Dieser Zusammenhang kann als weiterer Beleg für eine Verbindung aus den wichtigen pathophysiologischen Komponenten einer gesteigerten IFN-Signatur, gestörter B-

zellulärer Funktion und Plasmazellhyperaktivität und damit einhergehender erhöhter (Auto-)Antikörper Produktion gesehen werden.

IFN γ , das bekannter Weise insbesondere einen starken stimulierenden Effekt auf Monozyten hat [25], bewirkte signifikant gesteigerte Phosphorylierung von STAT1 in CD14+ Zellen von Lupus-Patienten.

In den Langzeitinkubationen mit IFN α und IFN γ für 48 Stunden zeigte sich in Lupus B- und T-Zellen eine Tendenz zu reduzierten STAT1-Proteinspiegeln - trotz der initial erhöhten Expression. Dies könnte einerseits mit einem Sättigungseffekt aufgrund der bekannt erhöhten IFN-Spiegel im Serum von Lupus-Patienten [27] zusammenhängen, andererseits jedoch auch mit einem neu observierten sogenannten Post-Aktivierungszustand der Zellen, der insbesondere in SLE-B-Zellen im Zusammenhang mit einigen zellulären Signalwegen beobachtet wird [28–30].

Insgesamt unterstützen diese Daten die bedeutende pathophysiologische Rolle von IFN und damit einhergehend veränderter JAK-STAT Signaltransduktion in Lupus. Gleichzeitig offenbaren sie potentiell erfolgsversprechende therapeutische Targets in Zeiten moderner Möglichkeiten der Immunmodulation durch Biologika. Die Inhibition von JAK-Kinasen [31] und das Blocken des IFNAR [17] konnte in ersten Studien primäre Endpunkte erreichen. STAT-Proteine und andere transkriptomregulierende Moleküle wie Interferonregulationsfaktoren sollten hinsichtlich weiterer mechanistischer Ziele und Möglichkeiten für therapeutische Angriffspunkte untersucht werden. STAT1 bietet darüber hinaus Möglichkeiten des Einsatzes als *Response*-Biomarker, um Patienten zu detektieren, die für solche Therapien mit womöglich hohem Ansprechen in Frage kommen.

9 Literaturverzeichnis

1. Aue A, Szelinski F, Weißenberg SY, Wiedemann A, Rose T, Lino AC, Dörner T. Elevated STAT1 expression but not phosphorylation in lupus B cells correlates with disease activity and increased plasmablast susceptibility. *Rheumatology (Oxford)*. 1. Mai 2020;
2. Bennett L, Palucka AK, Arce E, Cantrell V, Borvak J, Banchereau J, Pascual V. Interferon and granulopoiesis signatures in systemic lupus erythematosus blood. *J Exp Med*. 17. März 2003;197(6):711–23.
3. Baechler EC, Batliwalla FM, Karypis G, Gaffney PM, Ortmann WA, Espe KJ, Shark KB, Grande WJ, Hughes KM, Kapur V, Gregersen PK, Behrens TW. Interferon-inducible gene expression signature in peripheral blood cells of patients with severe lupus. *Proc Natl Acad Sci USA*. 4. März 2003;100(5):2610–5.
4. Munroe ME, Lu R, Zhao YD, Fife DA, Robertson JM, Guthridge JM, Niewold TB, Tsokos GC, Keith MP, Harley JB, James JA. Altered type II interferon precedes autoantibody accrual and elevated type I interferon activity prior to systemic lupus erythematosus classification. *Ann Rheum Dis*. November 2016;75(11):2014–21.
5. de Weerd NA, Nguyen T. The interferons and their receptors--distribution and regulation. *Immunol Cell Biol*. Mai 2012;90(5):483–91.
6. Biesen R, Demir C, Barkhudarova F, Grün JR, Steinbrich-Zöllner M, Backhaus M, Häupl T, Rudwaleit M, Riemekasten G, Radbruch A, Hiepe F, Burmester G-R, Grützkau A. Sialic acid-binding Ig-like lectin 1 expression in inflammatory and resident monocytes is a potential biomarker for monitoring disease activity and success of therapy in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. April 2008;58(4):1136–45.
7. Rose T, Grützkau A, Hirseland H, Huscher D, Dähnrich C, Dzionek A, Ozimkowski T, Schlumberger W, Enghard P, Radbruch A, Riemekasten G, Burmester G-R, Hiepe F, Biesen R. IFN α and its response proteins, IP-10 and SIGLEC-1, are biomarkers of disease activity in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. Oktober 2013;72(10):1639–45.
8. Bogie JF, Boelen E, Louagie E, Delputte P, Elewaut D, van Horssen J, Hendriks JJ, Hellings N. CD169 is a marker for highly pathogenic phagocytes in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2018;24(3):290–300.
9. Lisney AR, Szelinski F, Reiter K, Burmester GR, Rose T, Dörner T. High maternal expression of SIGLEC1 on monocytes as a surrogate marker of a type I interferon signature is a risk factor for the development of autoimmune congenital heart block. *Ann Rheum Dis*. August 2017;76(8):1476–80.
10. Rose T, Szelinski F, Lisney A, Reiter K, Fleischer SJ, Burmester GR, Radbruch A, Hiepe F, Grützkau A, Biesen R, Dörner T. SIGLEC1 is a biomarker of disease activity and indicates extraglandular manifestation in primary Sjögren's syndrome. *RMD Open*. 2016;2(2):e000292.

11. Dörner T, Jacobi AM, Lee J, Lipsky PE. Abnormalities of B cell subsets in patients with systemic lupus erythematosus. *Journal of Immunological Methods*. 5. Januar 2011;363(2):187–97.
12. Dörner T. Crossroads of B cell activation in autoimmunity: rationale of targeting B cells. *J Rheumatol Suppl*. Mai 2006;77:3–11.
13. Kalunian KC, Merrill JT, Maciuga R, McBride JM, Townsend MJ, Wei X, Davis JC, Kennedy WP. A Phase II study of the efficacy and safety of rontalizumab (rhuMAB interferon- α) in patients with systemic lupus erythematosus (ROSE). *Ann Rheum Dis*. Januar 2016;75(1):196–202.
14. Khamashta M, Merrill JT, Werth VP, Furie R, Kalunian K, Illei GG, Drappa J, Wang L, Greth W, CD1067 study investigators. Sifalimumab, an anti-interferon- α monoclonal antibody, in moderate to severe systemic lupus erythematosus: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Ann Rheum Dis*. November 2016;75(11):1909–16.
15. Furie R, Khamashta M, Merrill JT, Werth VP, Kalunian K, Brohawn P, Illei GG, Drappa J, Wang L, Yoo S, CD1013 Study Investigators. Anifrolumab, an Anti-Interferon- α Receptor Monoclonal Antibody, in Moderate-to-Severe Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, NJ)*. 2017;69(2):376–86.
16. Furie RA, Morand EF, Bruce IN, Manzi S, Kalunian KC, Vital EM, Lawrence Ford T, Gupta R, Hiepe F, Santiago M, Brohawn PZ, Berglind A, Tummala R. Type I interferon inhibitor anifrolumab in active systemic lupus erythematosus (TULIP-1): a randomised, controlled, phase 3 trial. *The Lancet Rheumatology*. 1. Dezember 2019;1(4):e208–19.
17. Morand EF, Furie R, Tanaka Y, Bruce IN, Askanase AD, Richez C, Bae S-C, Brohawn PZ, Pineda L, Berglind A, Tummala R, TULIP-2 Trial Investigators. Trial of Anifrolumab in Active Systemic Lupus Erythematosus. *N Engl J Med*. 16 2020;382(3):211–21.
18. Shuai K, Ziemiecki A, Wilks AF, Harpur AG, Sadowski HB, Gilman MZ, Darnell JE. Polypeptide signalling to the nucleus through tyrosine phosphorylation of Jak and Stat proteins. *Nature*. 9. Dezember 1993;366(6455):580–3.
19. Plataniias LC. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nature Reviews Immunology*. Mai 2005;5(5):375–86.
20. Petri M, Orbai A-M, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, Bruce IN, Isenberg D, Wallace DJ, Nived O, Sturfelt G, Ramsey-Goldman R, Bae S-C, Hanly JG, Sánchez-Guerrero J, Clarke A, Aranow C, Manzi S, Urowitz M, Gladman D, Kalunian K, Costner M, Werth VP, Zoma A, Bernatsky S, Ruiz-Irastorza G, Khamashta MA, Jacobsen S, Buyon JP, Maddison P, Dooley MA, van Vollenhoven RF, Ginzler E, Stoll T, Peschken C, Jorizzo JL, Callen JP, Lim SS, Fessler BJ, Inanc M, Kamen DL, Rahman A, Steinsson K, Franks AG, Sigler L, Hameed S, Fang H, Pham N, Brey R, Weisman MH, McGwin G, Magder LS. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics

classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* August 2012;64(8):2677–86.

21. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, Birnbaum NS, Burmester GR, Bykerk VP, Cohen MD, Combe B, Costenbader KH, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Hazes JMW, Hobbs K, Huizinga TWJ, Kavanaugh A, Kay J, Kvien TK, Laing T, Mease P, Ménard HA, Moreland LW, Naden RL, Pincus T, Smolen JS, Stanislawska-Biernat E, Symmons D, Tak PP, Upchurch KS, Vencovský J, Wolfe F, Hawker G. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* September 2010;62(9):2569–81.
22. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM, Rasmussen A, Scofield H, Vitali C, Bowman SJ, Mariette X, International Sjögren's Syndrome Criteria Working Group. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Classification Criteria for Primary Sjögren's Syndrome: A Consensus and Data-Driven Methodology Involving Three International Patient Cohorts. *Arthritis & Rheumatology* (Hoboken, NJ). 2017;69(1):35–45.
23. Cossarizza A, Chang H-D, Radbruch A, Acs A, Adam D, Adam-Klages S, Agace WW, Aghaeepour N, Akdis M, Allez M, Almeida LN, Alvisi G, Anderson G, Andrä I, Annunziato F, Anselmo A, Bacher P, Baldari CT, Bari S, Barnaba V, Barros-Martins J, Battistini L, Bauer W, Baumgart S, Baumgarth N, Baumjohann D, Baying B, Bebawy M, Becher B, Beisker W, Benes V, Beyaert R, Blanco A, Boardman DA, Bogdan C, Borger JG, Borsellino G, Boulais PE, Bradford JA, Brenner D, Brinkman RR, Brooks AES, Busch DH, Büscher M, Bushnell TP, Calzetti F, Cameron G, Cammarata I, Cao X, Cardell SL, Casola S, Cassatella MA, Cavani A, Celada A, Chatenoud L, Chattopadhyay PK, Chow S, Christakou E, Čičin-Šain L, Clerici M, Colombo FS, Cook L, Cooke A, Cooper AM, Corbett AJ, Cosma A, Cosmi L, Coulie PG, Cumano A, Cvetkovic L, Dang VD, Dang-Heine C, Davey MS, Davies D, De Biasi S, Del Zotto G, Dela Cruz GV, Delacher M, Della Bella S, Dellabona P, Deniz G, Dessing M, Di Santo JP, Diefenbach A, Dieli F, Dolf A, Dörner T, Dress RJ, Dudziak D, Dustin M, Dutertre C-A, Ebner F, Eckle SBG, Edinger M, Eede P, Ehrhardt GRA, Eich M, Engel P, Engelhardt B, Erdei A, Esser C, Everts B, Evrard M, Falk CS, Fehniger TA, Felipo-Benavent M, Ferry H, Feuerer M, Filby A, Filkor K, Fillatreau S, Follo M, Förster I, Foster J, Foulds GA, Frehse B, Frenette PS, Frischbutter S, Fritzsche W, Galbraith DW, Gangaev A, Garbi N, Gaudilliere B, Gazzinelli RT, Geginat J, Gerner W, Gherardin NA, Ghoreschi K, Gibellini L, Ginhoux F, Goda K, Godfrey DI, Goettlinger C, González-Navajas JM, Goodyear CS, Gori A, Grogan JL, Grummitt D, Grützkau A, Haftmann C, Hahn J, Hammad H, Hämmerling G, Hansmann L, Hansson G, Harpur CM, Hartmann S, Hauser A, Hauser AE, Haviland DL, Hedley D, Hernández DC, Herrera G, Herrmann M, Hess C, Höfer T, Hoffmann P, Hogquist K, Holland T, Höllt T, Holmdahl R, Hombrink P, Houston JP, Hoyer BF, Huang B, Huang F-P, Huber JE, Huehn J, Hundemer M, Hunter CA, Hwang WYK, Iannone A, Ingelfinger F, Ivison SM, Jäck H-M, Jani PK, Jávega B, Jonjic S, Kaiser T, Kalina T, Kamradt T, Kaufmann SHE, Keller B, Ketelaars SLC, Khalilnezhad A, Khan S, Kisielow J, Klenerman P, Knopf J, Koay H-F, Kobow K, Kolls JK, Kong

WT, Kopf M, Korn T, Kriegsmann K, Kristyanto H, Kroneis T, Krueger A, Kühne J, Kukat C, Kunkel D, Kunze-Schumacher H, Kurosaki T, Kurts C, Kvistborg P, Kwok I, Landry J, Lantz O, Lanuti P, LaRosa F, Lehuen A, LeibundGut-Landmann S, Leipold MD, Leung LYT, Levings MK, Lino AC, Liotta F, Litwin V, Liu Y, Ljunggren H-G, Lohoff M, Lombardi G, Lopez L, López-Botet M, Lovett-Racke AE, Lubberts E, Luche H, Ludewig B, Lugli E, Lunemann S, Maecker HT, Maggi L, Maguire O, Mair F, Mair KH, Mantovani A, Manz RA, Marshall AJ, Martínez-Romero A, Martrus G, Marventano I, Maslinski W, Matarese G, Mattioli AV, Maueröder C, Mazzoni A, McCluskey J, McGrath M, McGuire HM, McInnes IB, Mei HE, Melchers F, Melzer S, Mielenz D, Miller SD, Mills KHG, Minderman H, Mjösberg J, Moore J, Moran B, Moretta L, Mosmann TR, Müller S, Multhoff G, Muñoz LE, Münz C, Nakayama T, Nasi M, Neumann K, Ng LG, Niedobitek A, Nourshargh S, Núñez G, O'Connor J-E, Ochel A, Oja A, Ordonez D, Orfao A, Orłowski-Oliver E, Ouyang W, Oxenius A, Palankar R, Panse I, Pattanapanyasat K, Paulsen M, Pavlinic D, Penter L, Peterson P, Peth C, Petriz J, Piancone F, Pickl WF, Piconese S, Pinti M, Pockley AG, Podolska MJ, Poon Z, Pracht K, Prinz I, Pucillo CEM, Quataert SA, Quatrini L, Quinn KM, Radbruch H, Radstake TRDJ, Rahmig S, Rahn H-P, Rajwa B, Ravichandran G, Raz Y, Rebhahn JA, Recktenwald D, Reimer D, Reis e Sousa C, Remmerswaal EBM, Richter L, Rico LG, Riddell A, Rieger AM, Robinson JP, Romagnani C, Rubartelli A, Ruland J, Saalmüller A, Saeys Y, Saito T, Sakaguchi S, Sala-de-Oyanguren F, Samstag Y, Sanderson S, Sandrock I, Santoni A, Sanz RB, Saresella M, Sautes-Fridman C, Sawitzki B, Schadt L, Scheffold A, Scherer HU, Schiemann M, Schildberg FA, Schimisky E, Schlitzer A, Schlosser J, Schmid S, Schmitt S, Schober K, Schraivogel D, Schuh W, Schüler T, Schulte R, Schulz AR, Schulz SR, Scottá C, Scott-Algara D, Sester DP, Shankey TV, Silva-Santos B, Simon AK, Sitnik KM, Sozzani S, Speiser DE, Spidlen J, Stahlberg A, Stall AM, Stanley N, Stark R, Stehle C, Steinmetz T, Stockinger H, Takahama Y, Takeda K, Tan L, Tárnok A, Tiegs G, Toldi G, Tornack J, Traggiai E, Trebak M, Tree TIM, Trotter J, Trowsdale J, Tsoumakidou M, Ulrich H, Urbanczyk S, van de Veen W, van den Broek M, van der Pol E, Van Gassen S, Van Isterdael G, van Lier RAW, Veldhoen M, Vento-Asturias S, Vieira P, Voehringer D, Volk H-D, von Borstel A, von Volkman K, Waisman A, Walker RV, Wallace PK, Wang SA, Wang XM, Ward MD, Ward-Hartstonge KA, Warnatz K, Warnes G, Warth S, Waskow C, Watson JV, Watzl C, Wegener L, Weisenburger T, Wiedemann A, Wienands J, Wilharm A, Wilkinson RJ, Willmsky G, Wing JB, Winkelmann R, Winkler TH, Wirz OF, Wong A, Wurst P, Yang JHM, Yang J, Yazdanbakhsh M, Yu L, Yue A, Zhang H, Zhao Y, Ziegler SM, Zielinski C, Zimmermann J, Zychlinsky A. Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies (second edition). *Eur J Immunol.* Oktober 2019;49(10):1457–973.

24. Goropevšek A, Gorenjak M, Gradišnik S, Dai K, Holc I, Hojs R, Krajnc I, Pahor A, Avčin T. Increased Levels of STAT1 Protein in Blood CD4 T Cells from Systemic Lupus Erythematosus Patients Are Associated with Perturbed Homeostasis of Activated CD45RA-FOXP3hi Regulatory Subset and Follow-Up Disease Severity. *J Interferon Cytokine Res.* 2017;37(6):254–68.
25. Karonitsch T, Feierl E, Steiner CW, Dalwigk K, Korb A, Binder N, Rapp A, Steiner G, Scheinecker C, Smolen J, Aringer M. Activation of the interferon-gamma

- signaling pathway in systemic lupus erythematosus peripheral blood mononuclear cells. *Arthritis Rheum.* Mai 2009;60(5):1463–71.
26. Frank DA, Mahajan S, Ritz J. Fludarabine-induced immunosuppression is associated with inhibition of STAT1 signaling. *Nat Med.* April 1999;5(4):444–7.
 27. Ytterberg SR, Schnitzer TJ. Serum interferon levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* April 1982;25(4):401–6.
 28. Rose T, Dörner T. Drivers of the immunopathogenesis in systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2017;31(3):321–33.
 29. Schrezenmeier E, Weißenberg SY, Stefanski A-L, Szelinski F, Wiedemann A, Lino AC, Dörner T. Postactivated B cells in systemic lupus erythematosus: update on translational aspects and therapeutic considerations. *Curr Opin Rheumatol.* 2019;31(2):175–84.
 30. Weißenberg SY, Szelinski F, Schrezenmeier E, Stefanski A-L, Wiedemann A, Rincon-Arevalo H, Welle A, Jungmann A, Nordström K, Walter J, Imgenberg-Kreuz J, Nordmark G, Rönnblom L, Bachali P, Catalina MD, Grammer AC, Lipsky PE, Lino AC, Dörner T. Identification and Characterization of Post-activated B Cells in Systemic Autoimmune Diseases. *Front Immunol.* 2019;10:2136.
 31. Wallace DJ, Furie RA, Tanaka Y, Kalunian KC, Mosca M, Petri MA, Dörner T, Cardiel MH, Bruce IN, Gomez E, Carmack T, DeLozier AM, Janes JM, Linnik MD, de Bono S, Silk ME, Hoffman RW. Baricitinib for systemic lupus erythematosus: a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet.* 21 2018;392(10143):222–31.

10 Anhang

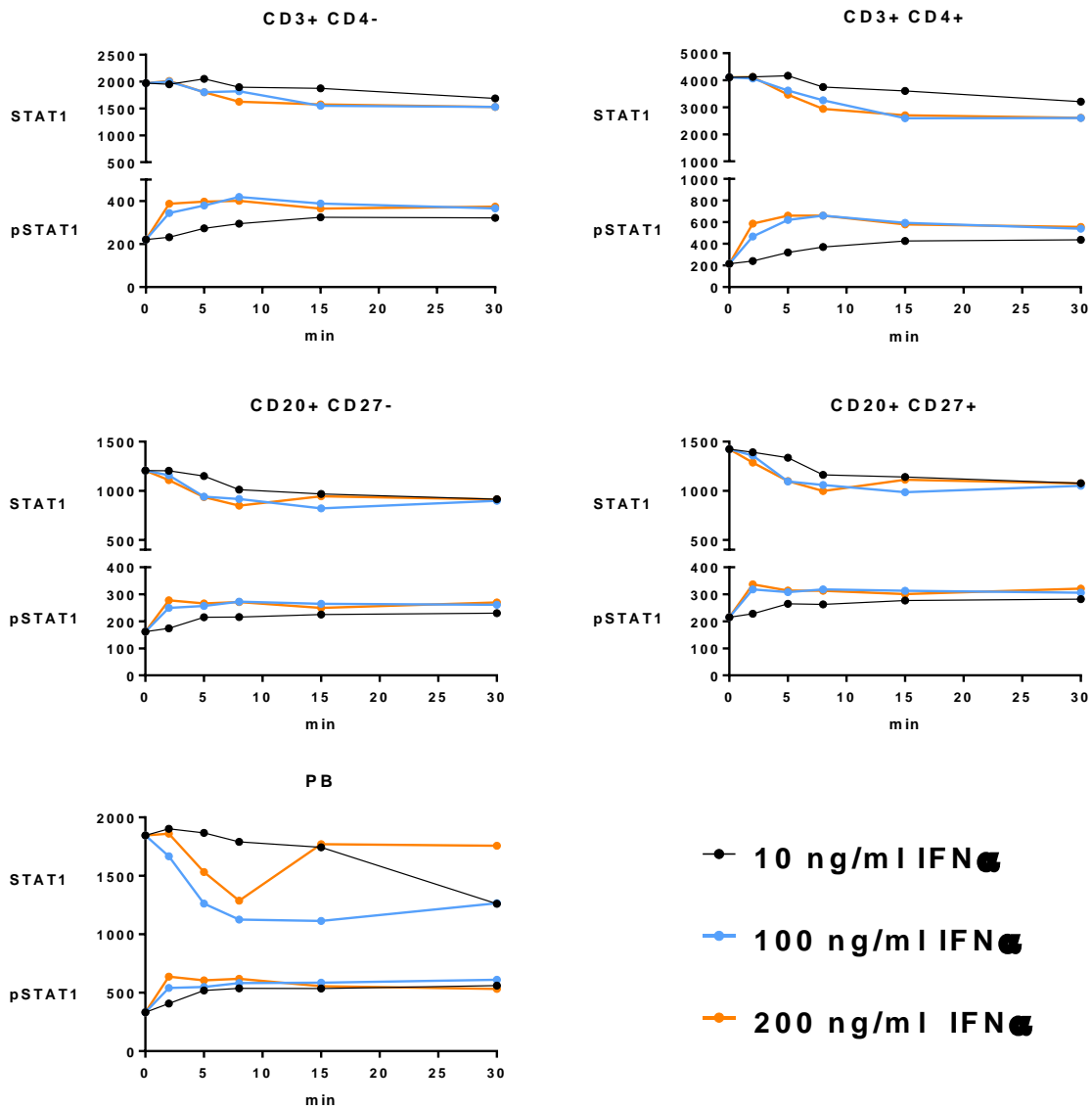


Abb. 10-1 Kinetikkurven für Kurzzeitstimulation mit IFN α anhand PBMCs eines HD. CD3+CD4-, CD3+CD4+, CD20+CD27- (Naive B-Zellen), CD20+CD27+ (Memory B-Zellen) und CD20 low CD27 high (Plasmablasten, PB) Zellen wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten (0, 2, 5, 8, 15, 30 min) mit IFN α mit einer Konzentration von 10 ng/ml (schwarz), 100 ng/ml (blau), 200 ng/ml (orange) inkubiert. Eigene Abbildung von Originaldaten (kein Bestandteil der Publikation).

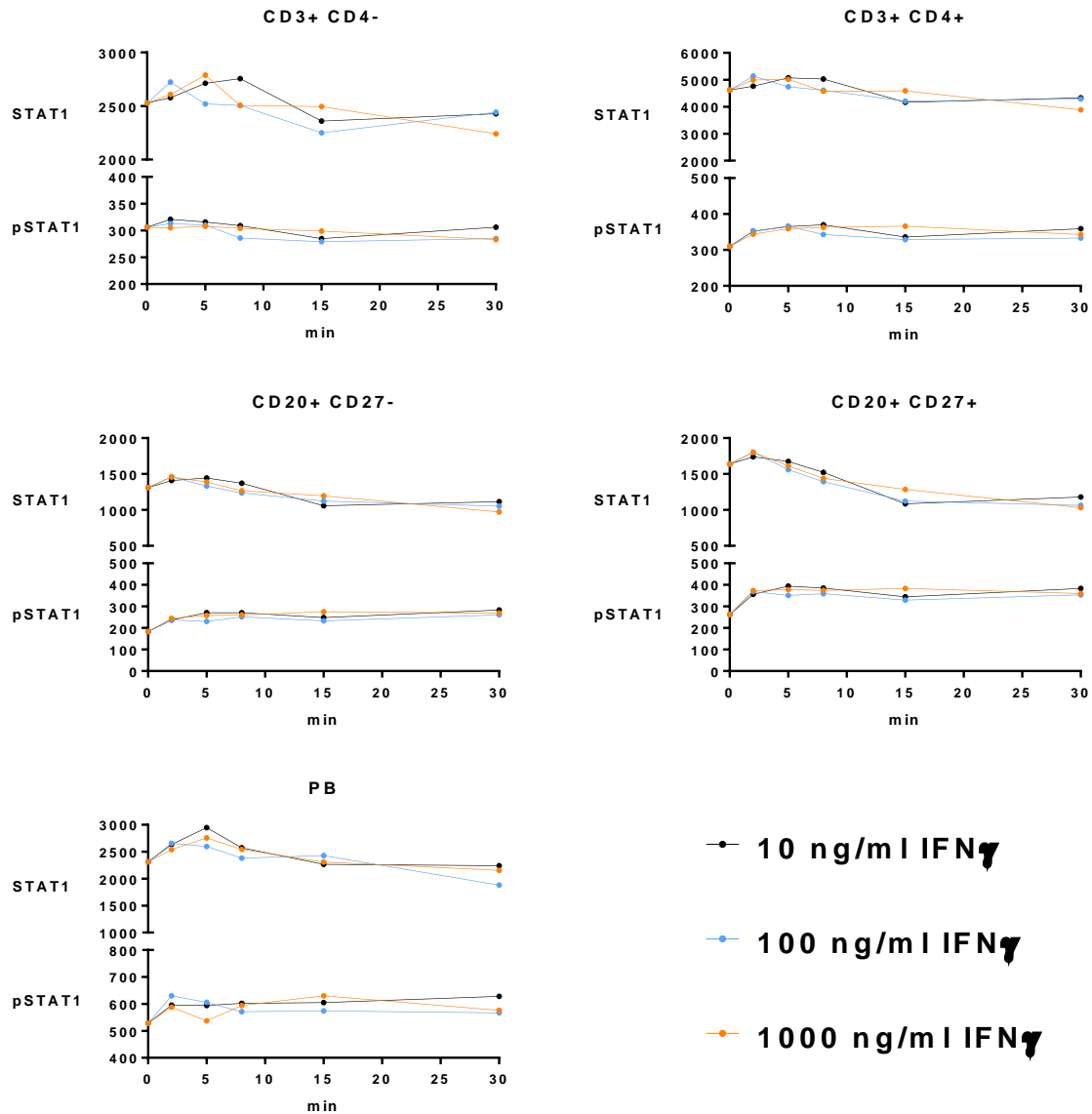


Abb. 10-2 Kinetikkurven für Kurzzeitstimulation mit IFN γ anhand PBMCs eines HD. CD3+CD4-, CD3+CD4+, CD20+CD27- (Naive B-Zellen), CD20+CD27+ (Memory B-Zellen) und CD20 low CD27 high (Plasmablasten, PB) Zellen wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten (0, 2, 5, 8, 15, 30 min) mit IFN γ mit einer Konzentration von 10 ng/ml (schwarz), 100 ng/ml (blau), 1000 ng/ml (orange) inkubiert. Eigene Abbildung von Originaldaten (kein Bestandteil der Publikation).

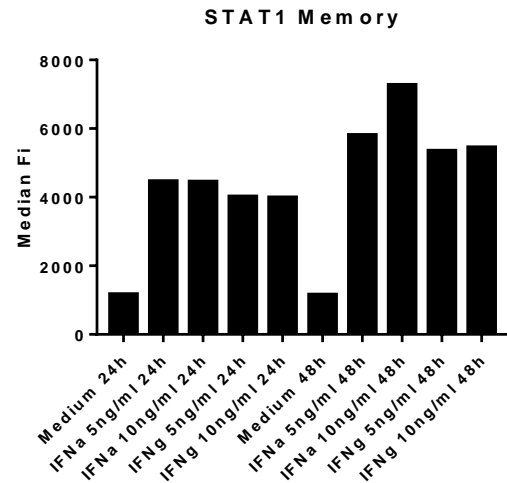
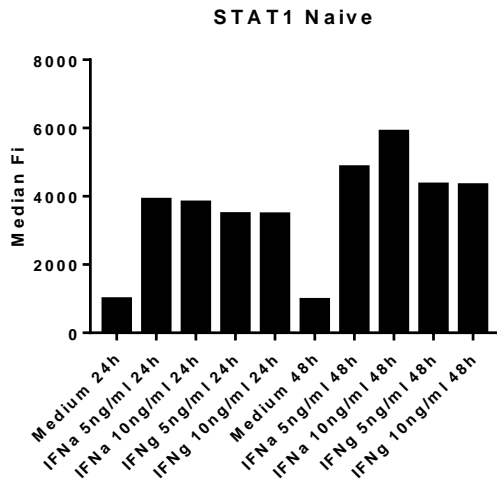
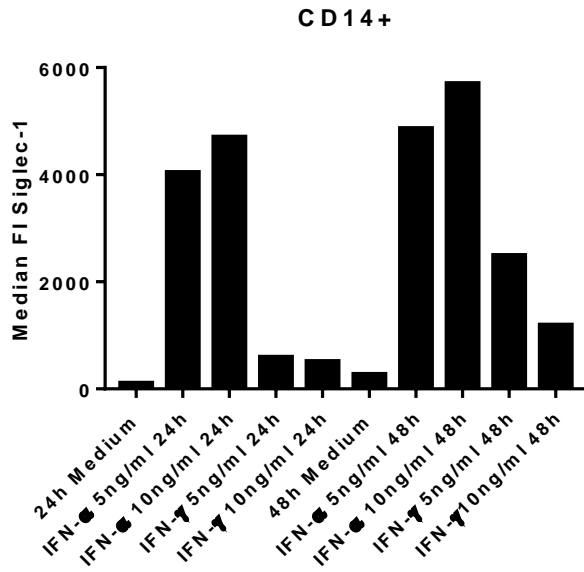


Abb. 10-3 Etablierung IFN-Langzeitinkubation Hier erfolgte die Inkubation von PBMCs eines HD für 24h oder 48h mit IFN α oder IFN γ in unterschiedlichen Konzentrationen (5 oder 10 ng/ml) um geeignete Zeitpunkte und Konzentrationen für die Analyse von Siglec-1 in CD14+ Monozyten und STAT1 in B-Zellen (Naive: CD20+CD27 $^{-}$, Memory: CD20+CD27 $^{+}$) zu ermitteln. Eigene Abbildung von Originaldaten (kein Bestandteil der Publikation).

11 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Arman Aue, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

„Signifikant erhöhte STAT1 Spiegel in Lupus B-Zellen als Verknüpfung gesteigerter Interferonsignatur und gestörter B-Zellfunktion“ bzw.

“Elevated STAT1 expression but not phosphorylation in lupus B cells correlates with disease activity and increased plasmablast susceptibility”

selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Erstbetreuer, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

12 Anteilserklärung

Arman Aue war beteiligt an folgender Publikation:

Aue A, Szelinski F, Weißenberg SY, Wiedemann A, Rose T, Lino AC, Dörner T. Elevated STAT1 expression but not phosphorylation in lupus B cells correlates with disease activity and increased plasmablast susceptibility. Rheumatology (Oxford). 1. Mai 2020

Beitrag im Detail

Zusammen mit Prof. Dr. med. Thomas Dörner erfolgte die Rekrutierung der Patienten und gesunden Probanden, die Blutabnahmen, Komposition und Analyse der klinischen Daten, durchflusszytometrische Analysen, statistische Auswertung, sowie das Verfassen und Überarbeiten der Publikation bzw. des Manuskripts. Sämtliche Tabellen und Abbildungen der klinischen sowie experimentellen Daten aus der Publikation wurden von mir selbst unter Supervision von Herrn Prof. Dr. med. Thomas Dörner und den angeführten Co-Autoren angefertigt.

Prof. Dr. med. Thomas Dörner
Erstbetreuer

Arman Aue
Promovierender

13 Auszug aus der Journal-Summary-List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2017** Selected Editions: SCIE,SSCI
Selected Categories: **"RHEUMATOLOGY"** Selected Category Scheme: WoS

Gesamtanzahl: 31 Journale

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	Nature Reviews Rheumatology	6,584	15.661	0.022310
2	ANNALS OF THE RHEUMATIC DISEASES	41,994	12.350	0.081020
3	Arthritis & Rheumatology	8,188	7.871	0.039000
4	OSTEOARTHRITIS AND CARTILAGE	15,911	5.454	0.026630
5	RHEUMATOLOGY	18,744	5.245	0.033810

14 Publikation

Aue A, Szelinski F, Weißenberg SY, Wiedemann A, Rose T, Lino AC, Dörner T.
Elevated STAT1 expression but not phosphorylation in lupus B cells correlates with
disease activity and increased plasmablast susceptibility. *Rheumatology (Oxford)*. 1.
Mai 2020

<https://doi.org/10.1093/rheumatology/keaa187>

15 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

15 Lebenslauf

16 Publikationsliste

Wissenschaftliche Publikationen:

Aue A, Szelinski F, Weißenberg SY, Wiedemann A, Rose T, Lino AC, Dörner T. Elevated STAT1 expression but not phosphorylation in lupus B cells correlates with disease activity and increased plasmablast susceptibility. Rheumatology (Oxford). 1. Mai 2020

Kongressbeiträge:

Aue A, Szelinski F, Weißenberg SY, Wiedemann A, Rose T, Lino AC, Dörner T. OP0005 ELEVATED STAT1 EXPRESSION BUT NOT PHOSPHORYLATION IN LUPUS B CELLS CORRELATES WITH DISEASE ACTIVITY AND INCREASED PLASMABLAST SUSCEPTIBILITY. Annals of the Rheumatic Diseases 2020; 79:4-5.

(Mündlicher Online-Vortrag am Covid-19-bedingt digital durchgeführten E-Kongress der EULAR im Juni 2020)

Aue A, Szelinski F, Weißenberg SY, Wiedemann A, Rose T, Lino AC, Dörner T. Elevated STAT1 expression but not phosphorylation in lupus B cells correlates with disease activity and increased plasmablast susceptibility.

(Poster-Präsentation am Covid-19-bedingt digital durchgeführten E-Kongress der DGRH im September 2020)

17 Danksagung

Aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.