

## 6.1 Zusammenfassung

Der SLE ist eine systemische Autoimmunerkrankung, charakterisiert durch hohe Titer von Immunkomplexen, Immunkomplex-bedingter Glomerulonephritis und Arthritiden sowie Lymphadenopathie.

Es existieren mehrere Mausmodelle, die genetisch bedingt am SLE erkranken. Bei zwei Mausstämmen (BXSB und NZB/W) ist der einzige pathologische Anhaltspunkt die von Geburt an vorhandene Expansion des Makrophagensystems mit allen Folgen durch die Bildung inflammatorischer Zytokine. Ein dritter Mausstamm ist die MRL-*lpr* Maus, die noch zusätzlich zur SLE-Disposition des Mutterstammes das *lpr*-Gen besitzt und besonders schnell und heftig erkrankt, wobei der SLE hier mit einer Lymphknotenvergrößerung einhergeht.

Die C57-*lpr* Maus wird häufig als SLE-Modell verwendet, obwohl bei ihr als einziges Symptom niedrige Autoantikörpergehalte im Plasma vorzufinden sind.

In der vorliegenden Arbeit wurde an der C57-*lpr* Maus die Rolle des *lpr*-Gens in der Ausbildung der Autoimmunität untersucht, wobei insbesondere verschiedene Makrophagenpopulationen näher betrachtet wurden, da bei den anderen SLE-Mausstämmen pathogenetisch eine massive Makrophagenbeteiligung wahrscheinlich ist. Als Kontrolle diente die C57 Maus die das *lpr*-Gen nicht besitzt, sonst aber mit der C57-*lpr* Maus genetisch identisch ist.

Die C57-*lpr* Maus entwickelt eine atypische Population von T-Zellen, die sowohl T-Zell- als auch B-Zelloberflächenantigene tragen und sich daher als T-Zellrezeptor  $\alpha$  und  $\beta$  +, CD4<sup>-</sup>, CD8<sup>-</sup> und B220<sup>+</sup> darstellen. Zellen dieses Phänotyps sind gemeinsam mit B-Lymphozyten maßgeblich an der Entstehung einer ausgeprägten Lymphoproliferation beteiligt.

Im Verlauf der Erkrankung werden Autoantikörper sezerniert, die im 6. LM ein Maximum erreichen. Im Vergleich zu anderen autoimmunen Mäusen sind die Titer jedoch gering.

Eine Glomerulonephritis wurde nicht ausgebildet. Untersuchungen an den Mesangiumzellen zeigten keine pathologischen Veränderungen.

Erst im 6. LM war bei der C57-*lpr* Maus die durch GM-CSF und M-CSF induzierte Proliferation der nicht parenchymalen Zellen der Leber und der Zellen der Milzmakrophagenfraktion stärker als bei den Kontrolltieren.

Die Organmakrophagen der C57-*lpr* Mäuse sezernierten nach einer Stimulation mit LPS in vitro besonders im 6. LM größere Mengen von Entzündungszytokinen als die der C57 Tiere. Die gravierendsten Unterschiede konnten beim IL-6 festgestellt werden.

Auch die Untersuchung des Plasmas LPS behandelter C57-*lpr* Tiere ergab höhere Zytokintiter ab dem 6. LM und unterstützt die in vitro erhobenen Befunde.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die Makrophagen erst spät in das Krankheitsgeschehen eingreifen. Sie werden erst ab dem 6. LM reaktiv, d. h. zu einem Zeitpunkt zu dem die Krankheit

schon stark ausgeprägt ist, so daß sie für die Pathogenese keine wesentliche Rolle spielen können.

Die typischen Mausmodelle für den SLE (MRL-*lpr*, NZB/W und BXSB) haben als Gemeinsamkeit ein expandiertes Makrophagensystem. Deswegen wurden im 2. Teil der Arbeit mit einer BCG-Behandlung in der C57-*lpr* und der C57 Maus das Makrophagenkompartiment gesteigert und die dadurch bedingten Veränderungen bezogen auf die Autoimmunität untersucht.

Die Ausbildung der Lymphoproliferation war zufolge der Behandlung mit BCG in der C57-*lpr* Maus reduziert und korrelierte mit einer geringeren Anzahl an doppeltnegativen Zellen, die durch Stimulierung des normalen CD4 Kompartiments bedingt war.

Die BCG-Behandlung führte sowohl bei den C57-*lpr*- als auch bei den C57 Mäusen zu einer Steigerung der spontanen Aktivitäten von inflammatorischen Zytokinen wie IL-1 und IL-6 im Plasma.

Die Autoantikörpertiter stiegen in der C57-*lpr* Maus früher als in den unbehandelten Mäusen an. Jedoch auch bei der BCG-behandelten Kontrollmaus kam es zur deutlichen Bildung von anti-DNA-Antikörpern.

In den vorliegenden Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß in der Erkrankung der C57-*lpr* Maus die Lymphoproliferation im Vordergrund steht. Diese Maus stellt deshalb ein hervorragendes Modell für die Tumorforschung dar, da mit der Einzüchtung eines einzigen Gens eine Lymphadenopathie erzeugt wird, die durch ein expansives, raumforderndes Wachstum charakterisiert ist und schließlich zum Tode führt.

Aus den Ergebnissen kann man folgern, daß das *lpr* -Gen in der Pathogenese des SLE keine Rolle spielt und nichts mit der Entwicklung der Autoimmunkrankheit zu tun hat.

Einzigster Autoimmunparameter ist die Ausbildung von Autoantikörpern; aber selbst diese haben nur niedrige Titer und lassen sich durch wiederholte Behandlung mit BCG auch in der gesunden C57 Maus induzieren.

## 6.2 Summary

Wirtz, S. (1994):

Investigations of the C57Bl/6-*lpr* mice affected by the systemic lupus erythematosus in comparison with the C57Bl/6 mice, under special consideration of the macrophage system.

The SLE is a systemic autoimmune disease characterized by a high titer of immune complexes, immune complex caused glomerulonephritis and arthritis as well as lymphadenopathia.

There are several murine models which cause genetical SLE. Two murine strains (BXSB and NZB/W) have shown as the only pathological signs the expansion of the macrophage system from the birth with all the effects of the inflammatory cytokines. The third murine strain is the MRL-*lpr* mouse, which possesses in addition to the SLE-disposition of the main-strain the *lpr*-gene and causes a very speedy and severe disease, while the SLE goes along with a lymph node proliferation.

The C57-*lpr* mouse is commonly used as a SLE-murine model, although it has as the only symptom a low autoantibody titer in plasma.

The present work investigates on the C57-*lpr* mice the role of the *lpr*-gene in the formation of the autoimmunity, while especially the different population of macrophages are closely considered, since the other SLE-murine strains have pathogenic probably a massive involvement of macrophages. As a control serves the C57 mouse, which does not possess the *lpr*-gene, otherwise it is genetically identical with the C57-*lpr* mouse.

The C57-*lpr* mouse develops an atypic population of T-cells, which contain T-cell- and B-cell-surface antigens and therefore presents as T-cell receptor  $\alpha$  and  $\beta$  +, CD4<sup>-</sup>, CD8<sup>-</sup> as well as B220<sup>+</sup>. Cells of this phenotype are together with the B-lymphocytes substantially involved in a distinct formation of lymphoproliferation.

In the course of the disease autoantibodies are produced which reach the maximum in the sixth month of life. In comparison to other autoimmune mice the level is however lower.

A glomerulonephritis is not developed. Investigations on the mesangial cells have not shown any pathological alteration.

Only in the sixth month of life of the C57-*lpr* murine was the induced proliferation through the GM-CSF and M-CSF of the non parenchymal cells of the liver and the spleen-macrophages fraction higher than in the control animals.

The organic macrophages of the C57-*lpr* mice produce after stimulation with LPS, especially in the sixth month of life hardly more inflammatory cytokines than the C57 animals. The main difference was found in the IL-6.

Furthermore the examination of plasma in the LPS treated C57-*lpr* animals has shown higher cytokine titer from the sixth month of life and supports the results which were raised in vitro.

These results show that the macrophages interfere later on in the event of the disease. They are reactive only from the sixth month of life, i.e. by the time where the disease is already strongly developed, so that they are not essential for the pathogenesis.

The typical murine models for the SLE (MRL-*lpr*, NZB/W and BXSB) have in common an expandable macrophage system. In the second part of the work the macrophage compartment was therefore increased through BCG-treatment in the C57-*lpr* and the C57 mice. Furthermore the differences related to the autoimmunity were examined.

The development of lymphoproliferation was reduced by the treatment of the C57-*lpr* mice and correlates in a lower quantity of double negative cells, which are caused through stimulation of the normal CD4 compartments.

The BCG-treatment leads in the C57-*lpr* mice as well as in the C57 mice to an increase in the spontaneous activities of the inflammatory cytokines like the IL-1 and IL-6 in plasma.

The titer of autoantibodies in the C57-*lpr* mice increased earlier than in the non treated mice. However the BCG treated mice have also a distinct formation of anti-DNA antibodies.

It can be shown in the present investigations, that the disease of the C57-*lpr* murine shows mainly a lymph node proliferation. Therefore the murine represents an excellent model for the tumor research, because the transfer of only one gene which produces a lymphadenopathy is characterized through an expansive, space occupied growth and which finally leads to death.

It can be concluded from the results that the *lpr* -gene is not essential for the pathogenesis of the SLE and does not contribute to the development of the autoimmune disease.

The only autoimmune parameter is the development of autoantibodies, but even they have only a low titer and can also be induced in a healthy murine by repeated treatment with BCG.