

Aus dem Zentrum für Innere Medizin der Universität zu Köln  
Klinik und Poliklinik für Innere Medizin I  
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. M. Hallek

# **Die Bedeutung von GPSM2 Isoformen für die CD4<sup>+</sup> T-Zellmigration beim Systemischen Lupus Erythematoses**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Ruth Luca Esser  
aus Freiburg im Breisgau Deutschland

promoviert am 15.10.2024

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln  
2024

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink  
1. Gutachter: Privatdozent Dr. med. D. M. G. Kofler  
2. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. M. Fabri

## Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich keine Unterstützungsleistungen erhalten.

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die in dieser Arbeit angegebenen Experimente sind nach entsprechender Anleitung durch Herrn Priv.-Doz. Dr. med. David Kofler von mir selbst ausgeführt worden.

## Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 02.04.2024

Unterschrift:

## Danksagung

Ich möchte hier zunächst innehalten und all den Personen herzlichst danken, deren Hilfe zum Gelingen dieser Doktorarbeit beigetragen haben. Es war mir eine Freude, dieses Forschungsprojekt zu absolvieren und nun in meiner Dissertation zu Ende zu bringen.

Zuallererst möchte ich Priv.-Doz. Dr. David Kofler, meinem Doktorvater und Betreuer, dafür danken, dass er mir die notwendige Unterstützung in Form von Wissen und Anleitung für diese Arbeit gegeben hat. Ich schätze aufrichtig das großartige und unterstützende Umfeld, in dem ich gearbeitet habe und ohne das diese Doktorarbeit nicht zustande gekommen wäre.

Ich bin dankbar, dass ich während der Coronazeit in der AG Kofler und meinem Forschungsprojekt Quellen der Motivation und Ermutigung hatte, sowie einen Ort der Ruhe und Geborgenheit.

Ich möchte mich bei allen Mitarbeitern der AG Kofler und Anastasia aus der AG Seeger dafür bedanken, dass sie immer für alle meine Fragen und Anliegen da waren. Ganz besonders möchte ich mich bei Eva Steinbach-Knödgen und Anja Meyer als meine Korrekturlesenden bedanken.

Mein aufrichtiger Dank gilt meinen Mitdoktorand:innen Carolin Brück und Jan Thiele, denen ich mit meinen größten Dank ausdrücken möchte. Danke für die Unterstützung, die zahlreichen energiegebenden gemeinsamen Stunden im und außerhalb des Labors und eure Art. Dies all hat mit zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen.

Schließlich möchte ich meiner Familie und meinen Freunden dafür danken, dass sie immer für mich da waren und unterstützt haben, selbst in den schwierigen Phasen. Und meinem Opa - Du hast mich inspiriert, mir die ersten Geschichten über Darwin erzählt und du warst der erste Forscher, den ich kannte – dir möchte ich meine Arbeit widmen.

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>6</b>
<b>1. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>8</b>
<b>2. EINLEITUNG.....</b>	<b>9</b>
2.1. Systemischer Lupus Erythematoses.....	9
2.1.1. Epidemiologie und Ätiologie.....	9
2.1.2. Pathogenese .....	9
2.1.3. Klinik.....	10
2.1.4. Diagnostik .....	11
2.1.5. Therapie.....	13
2.2. CD4 <sup>+</sup> T-Helferzellen .....	14
2.2.1. Rolle der CD4 <sup>+</sup> -T-Helferzellen in der Immunantwort bei SLE .....	17
2.3. G-Protein signaling modulator 2.....	18
2.3.1. GoLoco-Motive.....	20
2.4. Fragestellungen und Ziel der Arbeit.....	21
<b>3. PUBLIKATION .....</b>	<b>23</b>
<b>4. DISKUSSION .....</b>	<b>27</b>
4.1. Die 35 kDa GPSM2 Isoform bei SLE .....	27
4.2. GPSM2 und Migration der CD4 <sup>+</sup> Zellen.....	27
4.3. Rolle von GPSM2 bei der CD4 <sup>+</sup> Zellproliferation bei SLE.....	29
4.4. GPSM2 bei Tumoren und SLE.....	29
4.5. GPSM2 Signalweg bei SLE .....	29
4.6. IL-6 und GPSM2 bei SLE.....	30
4.7. CCL20 und GPSM2 bei SLE.....	31
4.8. GPSM2 bei SLE und die Verbindung zu Hörverlust.....	32

4.9.	Zusammenfassung.....	33
<b>5.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>34</b>
<b>6.</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>39</b>
6.1.	Abbildungsverzeichnis .....	39

## Abkürzungsverzeichnis

ACR	American College of Rheumatology
ANA	Antinukleäre Antikörper
AKT	Proteinkinase B
AS	Ankylosierende Spondylitis
Bcl-6	B-cell lymphoma 6
CCL20	CC-chemokine ligand 20
CCR6	CC-chemokine rezeptor 6
CD	Cluster of differentiation
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DC	Dendritische Zelle
EMA	Europäische Arzneimittel Agentur
ER	Östrogenrezeptor
ERK	extracellular signal-regulated kinases
EULAR	European Alliance of Associations for Rheumatology
FAS	FS-7-assoziiertes Oberflächenantigen
GDI	guanosinenucleotide dissociation inhibitor
GDP	Guanosindiphosphat
GPCR	G-Protein-gekoppelte Rezeptoren
GPSM2	G-protein-signaling modulator 2
G $\alpha_{-i/o}$ -Loco	GoLoco motif
GSK3B	Glykogen Synthase Kinase-3 $\beta$
GTP	Guanosintriphosphat
HC	Gesunde Kontrolle
Her2/neu	human epidermal growth factor receptor 2
HLA	Humanes Leukozytenantigen
IL	Interleukin
IFN- $\gamma$	Interferon Gamma
kDa	Kilodalton
LGN	Leucine-Glycine-Asparagine
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
mTOR	mammalian target of rapamycin
MTX	Methotrexat
NK	Natürliche Killerzellen

NSAR	Nicht steroidale Antirheumatika
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinase
PBMC	Peripheral blood mononuclear cell
SEM	Standard error of the mean
SLE	Systemischer Lupus Erythematodes
SLICC	Systemic Lupus International Collaborating Clinics
SPSS	statistical Package for the Social Sciences
STAT3	signal transducers and activators of transcription 3
TCR	T-Zell-Rezeptor
T <sub>FH</sub>	Follikuläre T-Helferzelle
T <sub>H</sub>	T-Helfer-Zelle
TLR	Toll like receptor
TNF $\alpha$	Tumornekrosefaktor alpha
T <sub>reg</sub>	Regulatorische T-Zelle
TRP	tetratricopeptide repeats
T-Zellen	T-Helferzellen
ut	unbehandelt
VASP	vasodilator-stimulated phosphoprotein

## 1. Zusammenfassung

Der Systemische Lupus Erythematodes (SLE) ist eine Autoimmunerkrankung mit einer komplexen, multifaktoriellen Pathogenese und wird den Kollagenosen zugeordnet. Zur Pathogenese des SLE tragen vor allem B-Zellen, Dendritische Zellen (DCs) und weitere Zellen des angeborenen Immunsystems bei. Charakteristisch ist zudem die Infiltration von Organen durch Immunzellen, die zu einer Entzündung und Schädigung führt. Bei der Infiltration von Organen spielen  $CD4^+$  Zellen, insbesondere Th17 Zellen, eine wichtige Rolle. Es konnte gezeigt werden, dass der G-protein signaling modulator 2 (GPSM2) an der T-Zell-Migration beteiligt ist und bei SLE-Patient:innen in verringerter Phosphorylierung vorliegt.

Die vorliegende Arbeit analysiert die Rolle von GPSM2 und seiner 35 Kilodalton (kDa) Isoform, die die regulatorischen  $G\alpha_{i/o}$ -Loco (GoLoco)-Motive des Proteins enthält, bei der T-Zell-Migration in SLE. Die Erkenntnisse zum Einfluss von GPSM2 auf die T-Zell-Migration sollen genutzt werden, um zu untersuchen, welche Auswirkungen eine Inhibition von GPSM2 auf die Behandlung von SLE-Patient:innen haben könnte.

Die GPSM2-Proteinexpressionsanalyse in  $CD4^+$  Zellen bei SLE-Patient:innen und gesunden Proband:innen erfolgte mittels Western Blot. Im nächsten Schritt wurde das Migrationsverhalten der  $CD4^+$  Zellen beider Gruppen mit und ohne GPSM2-spezifischer Blockade mit Hilfe eines Migrations-Assays untersucht.

Die Experimente zeigten eine vergleichbare Expression von GPSM2 in  $CD4^+$  Zellen von SLE Patient:innen und von gesunden Personen, jedoch eine signifikant erhöhte Expression der 35 kDa Isoform von GPSM2 bei SLE-Patient:innen. Die Migration der  $CD4^+$  Zellen war bei SLE-Patient:innen im Vergleich zur gesunden Kontrolle erhöht. Bei einer gezielten antikörpervermittelten GPSM2-Blockade der GoLoco-Motive *in vitro* fanden sich darüber hinaus eine signifikant verringerte Migrationsfähigkeit der  $CD4^+$  Zellen von SLE-Patient:innen. Zusammenfassend konnten die Untersuchungen zeigen, dass GPSM2 zu einer verstärkten  $CD4^+$  T-Zell-Migration bei SLE-Patient:innen beiträgt und dass die  $CD4^+$  T-Zell-Migration mit einer gezielten Blockade mit spezifischen Antikörpern verringert werden kann. Die Blockade von GPSM2 könnte ein vielversprechender Ansatz sein, um die Infiltration von  $CD4^+$  Zellen in entzündetes Gewebe zu reduzieren und Organschäden bei SLE zu verhindern und somit wichtige Folgeerscheinungen von SLE zu unterbinden.

## **2. Einleitung**

### **2.1. Systemischer Lupus Erythematodes**

#### **2.1.1. Epidemiologie und Ätiologie**

Der systemische Lupus Erythematodes (SLE) ist eine seltene, chronisch-entzündliche Autoimmunerkrankung mit einer Prävalenz von 20-150 Fällen auf 100.000 Menschen weltweit und wird zu den Kollagenosen gezählt<sup>1</sup>. Der SLE kann Menschen jeden Alters und Geschlechts betreffen, tritt aber viermal häufiger bei Frauen auf, insbesondere bei Frauen im gebärfähigen Alter<sup>2</sup>. Die Prävalenz ist bei Menschen afrikanischer, asiatischer und hispanischer/lateinamerikanischer Abstammung erhöht<sup>1</sup>. Der Häufigkeitsgipfel der Erkrankung liegt bei Menschen im Alter von 20-40 Jahren. Der SLE zeigt ein heterogenes Befallsmuster, wobei alle Organe und Gewebe betroffen sein können.

#### **2.1.2. Pathogenese**

Die Ursache des SLE ist noch nicht vollständig geklärt, jedoch geht man von einer multifaktoriellen Genese aus, die sich aus einer Kombination von genetischen, umweltbedingten und hormonellen Faktoren zusammensetzt<sup>1,3,4</sup>. Die Autoimmunkrankheit basiert auf humoralen wie zellulären pathogenen Mechanismen des Immunsystems. Viele genetische Veränderungen sind mit SLE assoziiert, jedoch führen erst mehrere veränderte Gene kumulativ zu einem erhöhten Erkrankungsrisiko<sup>5,6</sup>. Gene, die mit Funktionen des Immunsystems in Verbindung stehen, wie zum Beispiel der B- und T-Zell-Signalübertragung, der Beseitigung von abgestorbenen Zelltrümmern und der Zytokin-Signalübertragung, machen einen großen Teil der mit SLE assoziierten genetischen Loci aus<sup>7</sup>.

Hauptsächlich wird SLE durch eine abnorme Aktivierung autoreaktiver B-Zellen angetrieben, die zu einer pathogenen Autoantikörperproduktion gegen zytoplasmatische, nukleäre und zelloberflächliche Antigene und einer damit einhergehenden Organ- und Gefäßschädigung führt<sup>8,9</sup>. Zur Aktivierung und Bildung der dysfunktionalen B-Zellen kommt es durch verschiedene Mechanismen. Das Fehlen von Komplementfaktor C4 wird beispielsweise mit einer verminderten Eliminierung selbstreaktiver B-Zellen in Verbindung gebracht, während dendritische Zellen die B-Zellen aktivieren<sup>8</sup>. Aufgrund eines mangelhaften Abbaus toter Zellen können post-apoptische Zellbestandteile das Komplementsystem aktivieren, welches ebenfalls zu einem generellen Überlebenssignal für B-Zellen führt<sup>9</sup>. Ein weiterer Mechanismus, der in die B-Zell-Aktivierung eingreift, ist der Toll like Rezeptor (TLR). Störungen in den TLR Signalwegen sind mit Autoimmunerkrankungen wie der Rheumatoiden Arthritis (RA) und dem Diabetes Mellitus assoziiert, insbesondere wenn Polymorphismen in den TLR-Genen vorliegen<sup>10,11</sup>. TLR-Signalkaskaden beeinflussen die Produktion von Antikörpern, die Präsentation von Antigenen für T-Zellen und die Produktion von Zytokinen, wodurch sie

sowohl auf B- als auch auf T-Zellen wirken<sup>11-14</sup>. TLRs, wie TLR4 und TLR7, sind nachweislich in der Pathogenese des SLE involviert<sup>15</sup>. Vor allem Polymorphismen, die die TLR7-Expression erhöhen, weisen ein erhöhtes SLE-Risiko für Träger:innen auf<sup>16-18</sup>.

Neben der humoralen Komponente der Autoimmunerkrankung wurden auch zelluläre Immunstörungen bei SLE identifiziert, die T-Zellen, dendritische Zellen, natürliche Killerzellen (NK-Zellen) und Antigen-präsentierende Zellen betreffen<sup>19</sup>. Einzelnukleotid-Polymorphismen die mit SLE assoziiert sind und mit der Immunantwort zusammenhängen wurden als Gene identifiziert, deren Produkte zu einer abnormen T-Zell-Funktion beitragen<sup>20</sup>. Diese betreffen vornehmlich die Humane Leukozytenantigen (HLA)-Klasse-II-Moleküle, die für die T-Zell-abhängige Antikörperreaktionen verantwortlich sind. Die Rolle von SLE-assoziierten HLA-Klasse-II-Allelen bei der Auslösung von SLE-relevanten Autoantikörperreaktionen konnte in humanisierten Mäusen gezeigt werden<sup>7</sup>.

Das Immunsystem schädigt somit durch die Freisetzung von Entzündungszytokinen sowie durch eine anormale Aktivierung autoreaktiver T- und B-Zellen und der damit einhergehenden Autoantikörperproduktion Gewebe und Organe im Körper<sup>8</sup>.

### **2.1.3. Klinik**

Die Symptome bei SLE können interindividuell sehr variabel und von unterschiedlicher Intensität sein. Allgemeinsymptome wie Fieber, Müdigkeit und Gewichtsverlust sind bei etwa 95% der Patient:innen zu beobachten. Häufige klinischen Merkmale bei SLE-Patient:innen sind Arthralgien, Myalgien, Nierenbeteiligung, Serositis, hämatologische Störungen, neuropsychiatrische Funktionsstörungen und Herz-Kreislauf-Erkrankungen sowie eine Hautbeteiligung, mit z.B. dem klassischen Schmetterlingserythem und Läsionen der Schleimhäute<sup>21</sup>. Hautbeteiligungen treten bei bis zu 75% der Patient:innen auf und sind häufig Erstmanifestation der Erkrankung. Hier können häufig Unterformen wie der akut kutane Lupus erythematoses (ACLE) und der chronische diskoide Lupus erythematoses (DLE), der in etwa 5% der Fälle in einen SLE übergeht, unterschieden werden<sup>2</sup>.

Das Muskuloskelettsystem ist bei 90% der SLE-Patient:innen betroffen. Schwerwiegende Organbeteiligungen sind Lupus-Nephritiden, Pleuritiden sowie Perikarditiden und Myokarditiden. Lupus-Nephritiden stellen mit einer Häufigkeit von 30-60% die häufigste und schwerwiegendste Organkomplikation des SLE dar und sind mit einer hohen Morbidität und einer erhöhten Mortalität verbunden<sup>22</sup>. Die Lupus-Nephritiden sind Glomerulonephritiden und werden histologisch in sechs Klassen unterteilt. Pleuritiden stellen die häufigste pulmonale und die Myokarditiden, Liebmann-Sachs-Endokarditis und Koronararteriitiden die häufigsten kardialen Manifestationen dar<sup>23</sup>. Hauptsächlich trägt jedoch die Arteriosklerose zur verfrühten Mortalität bei. 15-50% der Patient:innen leiden an unspezifischen und diffusen neurologischen Symptomen<sup>23</sup>.

#### **2.1.4. Diagnostik**

Die SLE-Diagnostik setzt sich aus Klinik, Laborparametern, bildgebenden Verfahren und Biopsien zusammen. Die Klassifikationskriterien, wie Krankheitsaktivität und –schaden, leiten sich daraus ab.

Die Klinik kann alle Organe betreffen, weshalb eine gründliche Anamnese und körperliche Untersuchung die Grundlage der weiterführenden Diagnostik bildet. Weiterführend wird ein Screening-Labor abgenommen. Dazu gehören unter anderem eine Blutsenkungsgeschwindigkeit, ein Blutbild, Kreatinin, Urinuntersuchungen und antinukleäre Antikörper (ANA). Die betroffenen Organe werden laborchemisch und mittels bildgebender Verfahren oder Biopsien untersucht. Bei einem pathologischen Screening-Labor, vor allem bei einem positiven ANA-Titer, wird eine weiterführende Labordiagnostik eingeleitet.

In der SLE-Diagnostik ist der ANA-Titer aufgrund der meist schleichend beginnenden und unspezifischen Anfangssymptome von großer Bedeutung. Daher wurde ein erhöhter ANA-Titer ( $\geq 1:80$ ) in der 2019 überarbeiteten Version der European Alliance of Associations for Rheumatology/American College of Rheumatology Kriterien (EULAR/ACR-Kriterien) als obligatorisches Eingangskriterium eingeführt. Zur Klassifikation des SLE sind im klinischen Alltag die 2019 überarbeiteten EULAR/ACR-Kriterien (Abbildung 1) sowie die Systemic Lupus International Collaborating Clinics Kriterien (SLICC-Kriterien) (Abbildung 2) in Gebrauch. Diese stützen sich sowohl auf Organmanifestationen und die Klinik als auch auf laborchemische Kriterien. Bei der Antikörperdiagnostik beim SLE unterteilt man die ANA in weitere Untergruppen. Hierzu zählen insbesondere die Anti-doppelsträngige (ds) DNA-Antikörper (AK). Weitere SLE-assoziierte Autoimmunantikörper sind Anti-Smith (SM)-AK, Soluble Substance A-Antigen/Robert-Antigen (SS-A/Ro)-AK und Anti-U1Ribonukleoprotein (RNP)-AK, die eine unterschiedliche Häufigkeit und Spezifität aufweisen. Weitere Antikörper wie Anti-C1q-AK können mit der Krankheitsaktivität bei SLE korrelieren.

Photoprovokationstests gehören zur weiteren eingesetzten Diagnostik. Die Lupus-Nephritiden werden anhand eines Urinsediments, eines Sammelurins und der Histologie unterteilt. Differenzialdiagnosen aller Organbeteiligungen sollten konsiliarisch abgeklärt werden. Die Weiterbehandlung sollte interdisziplinär von den jeweiligen Fachrichtungen erfolgen.

Die Krankheitsaktivität wird insbesondere im Rahmen klinischer Studien mittels verschiedener standardisierter Scores klassifiziert (SLEDAI, SLEDAI-2k, SLAM, BILAG, ECLAM). Aus ihnen resultieren die Therapie sowie die Taktung weiterer Untersuchungen. Die EULAR empfiehlt daher die Erfassung der Krankheitsaktivität bei jeder Patient:innenvorstellung und eine jährliche Erfassung von Schäden mittels SLICC/ACR Damage Index für SLE.

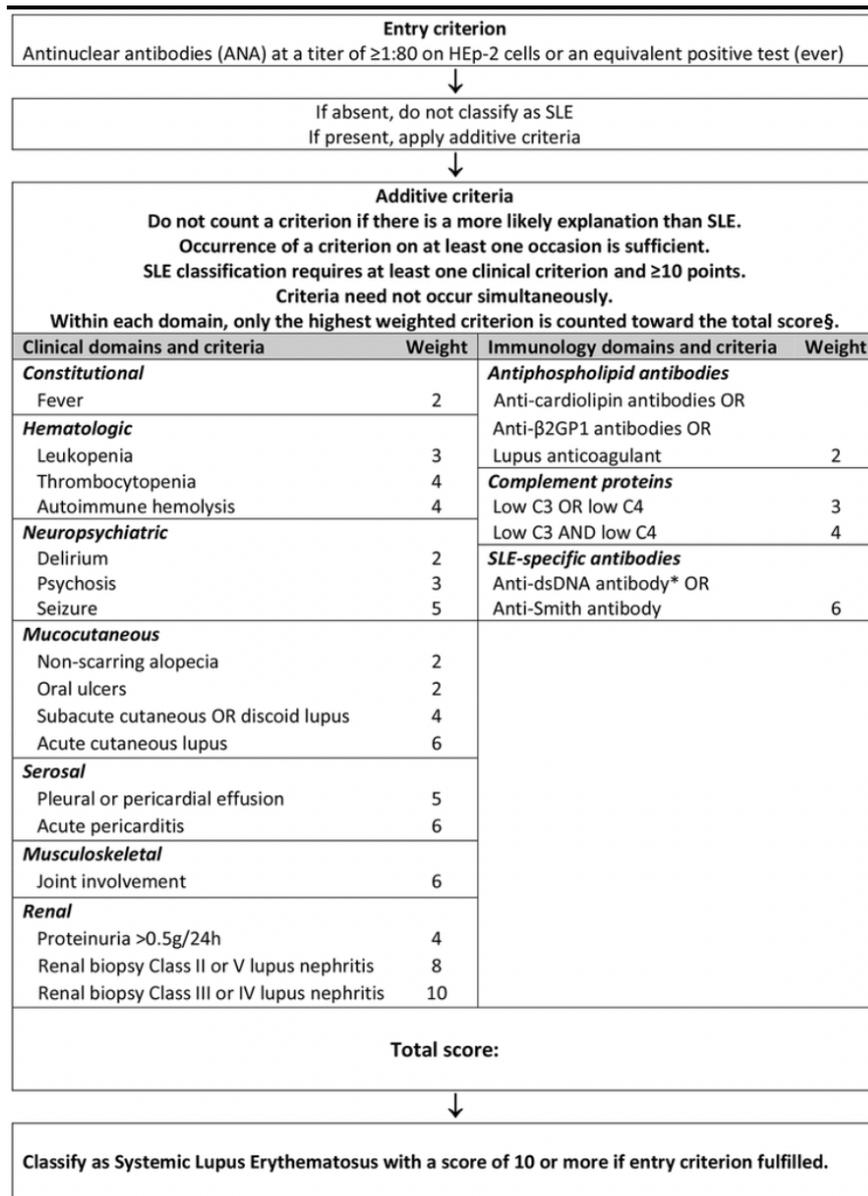


Abbildung 1: EULAR/ACR Klassifizierungskriterien SLE 2019<sup>24</sup>

### **Klassifikationskriterien des SLE: Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC) Classifi- cation Criteria\***

- **Klinische Kriterien**
  - akut kutaner Lupus erythematoses (inklusive „Schmetterlingserythem“)
  - chronisch kutaner Lupus erythematoses (z. B. lokalisierter oder generalisierter diskoider Lupus erythematoses)
  - orale Ulzera (an Gaumen und/oder Nase)
  - nicht vernarbende Alopezie
  - Synovitis ( $\geq 2$  Gelenke) oder Druckschmerz ( $\geq 2$  Gelenke) und Morgensteife ( $\geq 30$  min)
  - Serositis (Pleuritis oder perkardiale Schmerzen, die länger als einen Tag anhalten)
  - Nierenbeteiligung (Einzelurin: Protein/Kreatinin Ratio oder Eiweiß im 24 h Sammelurin,  $> 0,5$  g)
  - neurologische Beteiligung (zum Beispiel Epilepsie, Psychose, Myelitis)
  - hämolytische Anämie
  - Leukopenie ( $< 4\ 000/\mu\text{L}$ ) oder Lymphopenie ( $< 1\ 000/\mu\text{L}$ )
  - Thrombozytopenie ( $< 100\ 000/\mu\text{L}$ )
- **Immunologische Kriterien**
  - ANA-Titer oberhalb des Laborreferenzwerts
  - anti-dsDNA Antikörper
  - anti-Sm Antikörper
  - anti-Phospholipid Antikörper (anti-Cardiolipin und anti- $\beta 2$ -Glycoprotein I [IgA-, IgG- oder IgM-] Antikörper; falsch-positiver VDRL [Venereal Disease Research Laboratory]-Test)
  - erniedrigtes Komplement (C3, C4 oder CH50)
  - direkter Coombs-Test (ohne hämolytische Anämie)

\* modifiziert (Kurzform) nach (9).  
Für eine Klassifizierung als SLE ist erforderlich, dass vier Kriterien (davon mindestens ein klinisches und ein immunologisches) erfüllt sind oder bei positiven ANA oder anti-dsDNA-Antikörpern histologisch eine Lupusnephritis diagnostiziert wird. Die SLICC-Kriterien sind keine Diagnosekriterien. SLE: systemischer Lupus erythematoses

Abbildung 2: SLICC Klassifikationskriterien SLE 2012<sup>2</sup>

### **2.1.5. Therapie**

Zurzeit gibt es keine Heilung der Erkrankung, weshalb die Vermeidung von Exazerbationen und eine gute Kontrolle der Krankheitsaktivität das Therapieziel darstellt. Durch eine frühere Diagnosestellung und bessere Behandlungsmöglichkeiten des SLE konnte die Überlebensrate signifikant verbessert werden. 1955 lag die Fünfjahresüberlebensrate bei 5 % und 2021 bei 91 %<sup>2,25</sup>. Die Achtjahresüberlebensrate stieg in diesem Zeitraum von 0 % auf 89 %<sup>2,25</sup>. Bei Patient:innen, die bereits bei Diagnosestellung eine Lupus-Nephritis hatten, lag die

Zehnjahresüberlebensrate im Jahr 2003 bei 88 %<sup>2,26</sup> und bei einer Studie aus dem Jahr 2015 bei 96 %<sup>27</sup>.

Bei leichten Verläufen ohne schwere Organbeteiligung werden Antimalariamittel (Hydroxychloroquin oder Chloroquin) und Nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR) sowie Glucocorticoide in niedriger Dosierung eingesetzt. Bei Krankheitsschüben kann die Glucocorticoid-Dosis vorübergehend erhöht werden. Antimalariamittel werden, sofern keine Kontraindikationen vorliegen, bei allen SLE-Patient:innen empfohlen und sollten auch während der Schwangerschaft und Stillzeit weiter eingenommen werden. Durch sie wird die Aktivierung der TLR inhibiert und sie zeigen einen positiven Effekt auf die Schubfrequenz, Arthritiden, Hautveränderungen und Organbeteiligungen, wodurch der Glucocorticoidbedarf herabgesetzt wird. Bei SLE-Hautveränderungen können Glucocorticoide sowie Calcineurininhibitoren topisch appliziert werden.

Bei schweren Verläufen unter Beteiligung lebenswichtiger Organe können auf Glucocorticoide und den off-label Gebrauch von Azathioprin, Methotrexat (MTX), sowie weiteren Immunsuppressiva und monoklonalen Antikörpern zurückgegriffen werden. Kürzlich wurden die monoklonalen Antikörper Belilumab und Anifrolumab von der europäischen Arzneimittelbehörde EMA für die Therapie des SLE zugelassen<sup>28,29</sup>.

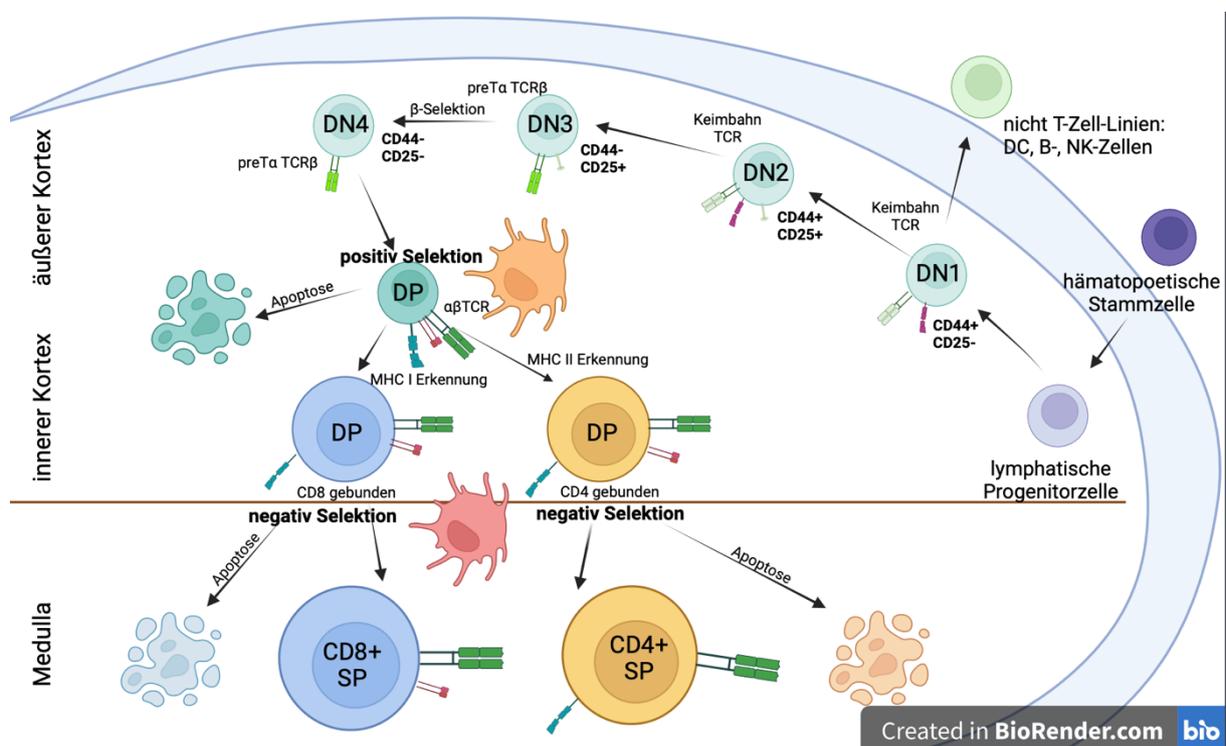
Zusätzlich wird Patient:innen aufgrund der hohen Photosensibilität zur Vermeidung von Lichtexposition und zum Gebrauch von Lichtschutzsalben geraten. Allgemein wird allen Patient:innen eine Rauchabstinenz wegen der Interaktion mit den Medikamenten sowie aus allgemeinen gesundheitlichen Aspekten empfohlen. Eine gute medikamentöse Einstellung der einhergehenden Komorbiditäten des SLE, regelmäßige Gewichtskontrollen und Impfungen im Hinblick auf die Immunsuppression gehören generell zur Therapie.

## **2.2. CD4<sup>+</sup> T-Helferzellen**

T-Zellen gehören zum spezifischen erworbenen Immunsystem des Menschen. Sie entstammen hämatopoetischen Vorläuferzellen des Knochenmarks. Anschließend kommt es zur Reifung der naiven T-Zellen (=Thymozyten) im Thymus<sup>30</sup>.

Im frühesten Entwicklungsstadium exprimieren die T-Zellen weder Cluster of Differentiation (CD) 4 noch CD8 und werden als Doppelnegative (DN) Zellen klassifiziert. CD sind immunphänotypische Oberflächenrezeptoren, die spezifisch von Zellklassen und Subgruppen exprimiert werden und für ihre Klassifizierung verwendet werden. Man kann vier Subklassen der DN Zellen unterscheiden, die nacheinander auftreten: CD44<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> Zellen (DN1), CD44<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Zellen (DN2), CD44<sup>-</sup>CD25<sup>+</sup> Zellen (DN3) und CD44<sup>-</sup>CD25<sup>-</sup> Zellen (DN4) (Abbildung 3). DN1 und DN2 Zellen weisen noch große Teile des Keimbahn-T-Zell-Rezeptors (TCR) auf<sup>31</sup>. Im DN3-Zell-Stadium kommt es durch die Neuordnung der TCR-Ketten, die sogenannte  $\beta$ -Selektion, zur Prä-TCR-Komplexexpression auf den Zelloberflächen. Dieser Komplex wird aus einer TCR- $\beta$ -Kette, einer Vorläufer-T $\alpha$ -Kette und einer CD3-Komponente

gebildet. Bei gleichzeitiger CD44- und CD25-Unterdrückung auf diesen Zellen formen sich DN4 Zellen. Fehlt der Prä-TCR-Komplex, führt dies zur Apoptose der Zellen. Die  $\beta$ -Selektion verhindert die weitere DNA-Rekombination der TCR-Ketten und leitet die weitere Proliferation und Differenzierung sowie die Hochregulierung von CD4 und CD8 auf den Zelloberflächen ein. Zellen, die CD4 und CD8 exprimieren, werden doppelpositive Zellen (DP) genannt<sup>31</sup>. Binden die DP nicht an Haupthistokompatibilitätskomplexe (MHC), werden sie mittels Apoptose abgebaut. Es kommt zu einer Positivselektion. Die Bindung an MHC-I unterdrückt die CD4-Expression, die MHC-II-Bindung die CD8-Expression. In der Medulla des Thymus folgt die Negativselektion der T-Zellen. Binden die T-Zellen über ihre TCR ihnen präsentierte Autoantigene, wird die Apoptose eingeleitet. Haben die T-Zellen die intrathymale Reifung durchlaufen, werden sie in CD4<sup>+</sup> T-Helferzellen (CD4<sup>+</sup> Zellen) und CD8<sup>+</sup> zytotoxische Zellen (CD8<sup>+</sup> Zellen) unterteilt und in die Peripherie entlassen. Beide T-Zellsubgruppen sind CD3<sup>+</sup> und erkennen Antigene über ihren TCR<sup>32</sup>.



**Abbildung 3: Thymozyten Entwicklungsmodell.** DN Zellen differenzieren sich stufenweise durch definierte CD44 und CD25 Zelloberflächenmolekülexpression aus. Andere lymphatische Zellen, wie B-, NK-Zellen und DC reifen ebenfalls im Thymus heran. An zwei Checkpoints der T-Zell-Entwicklung kann es zur Apoptose kommen, wenn im späten DN Stadium der Prä-TCR-Komplex nicht exprimiert wird oder es im späten DP Stadium nicht zu einer positiven Selektion mittels MHC I oder II kommt. Nach einer finalen negativen Selektion werden immunkompetente CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> Zellen generiert und in die Peripherie entlassen (Adaptiert von Bommhardt et al<sup>31</sup> und Germain et al<sup>33</sup>, erstellt mit BioRender).

CD8<sup>+</sup> Zellen induzieren bei der Wiedererkennung von Antigenen auf befallenen oder entarteten körpereigenen Zellen die Apoptose mittels proapoptischer und zytotoxischer

Substanzen oder direkt über ihren FS-7-assoziierten Oberflächenantigen-Liganden (FAS-Ligand). CD8<sup>+</sup> Zellen erkennen Antigene, die ihnen über MHC-I präsentiert werden.

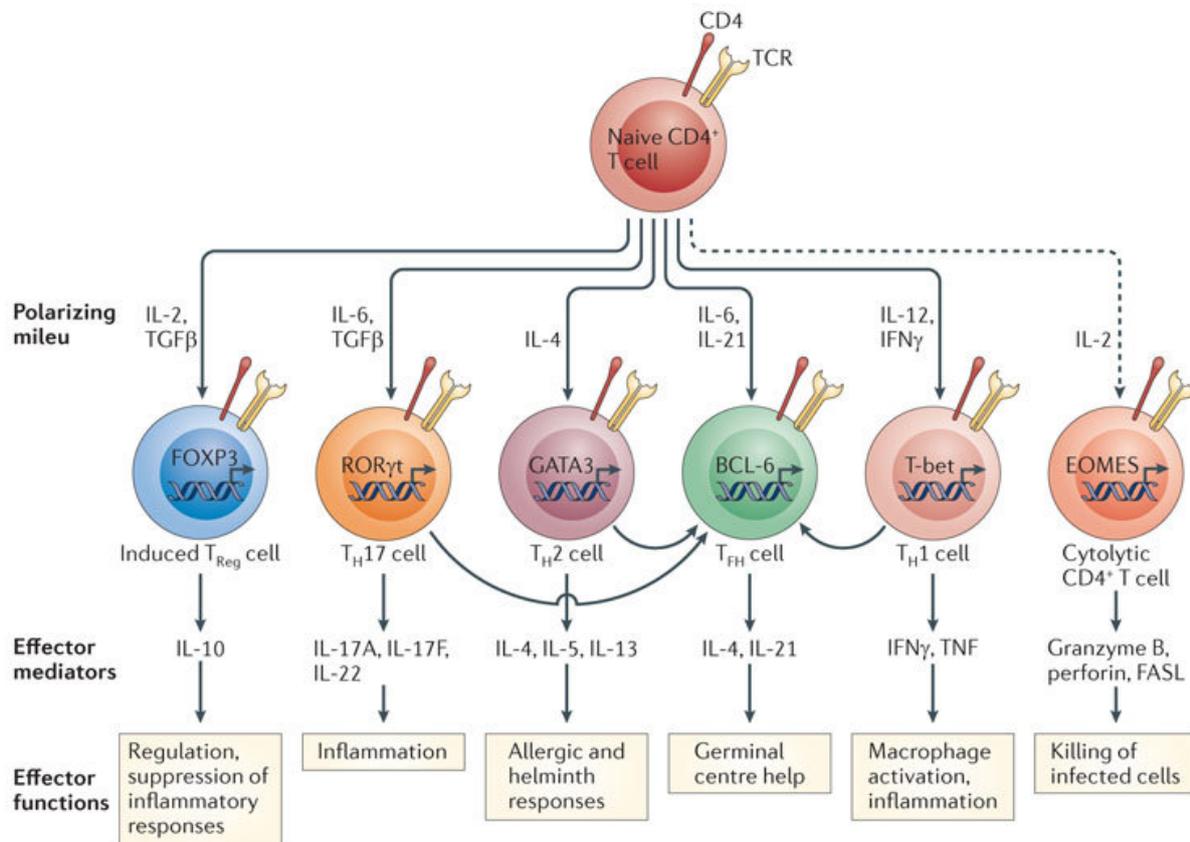
CD4<sup>+</sup> Zellen hingegen erkennen MHC-II-Komplex gebundene Antigene mit ihren TCR. Durch Antigenpräsentation und Zytokineinwirkung differenzieren sie sich in funktionelle Subtypen aus<sup>34,35</sup> (Abbildung 4).

CD4<sup>+</sup> Zellen regulieren das Immunsystem durch Aktivierung von B-Lymphozyten und dendritische Zellen sowie weiterer Immunzellen und durch Sezernierung verschiedener Interleukine. Diese wirken zum einen chemotaktisch auf Immunzellen zum anderen induzieren sie weitere T-Zellen des gleichen Subtyps. Es werden Effektorsubtypen wie T<sub>H</sub>1 (T-Helfer), T<sub>H</sub>2, T<sub>H</sub>9, T<sub>H</sub>17, T<sub>H</sub>22 und T-follikulären Helfer(<sub>FH</sub>) Zellen und regulatorischen T-Zellen (T<sub>reg</sub>) unterschieden (Abbildung 4).

Die Hauptfunktion der T<sub>H</sub>1 Zellen ist die Unterstützung des Immunsystems bei intrazellulärem Pathogenbefall. Sie produzieren hauptsächlich Interferon Gamma (IFN $\gamma$ )<sup>35</sup> und Interleukin-2 (IL-2). Dadurch kommt es bei B-Lymphozyten zum Antikörpergruppenwechsel; Makrophagen, NK-Zellen, und CD8<sup>+</sup> T-Zellen werden aktiviert. T<sub>H</sub>2 Zellen kommen hingegen vornehmlich bei der Bekämpfung extrazellulärer Parasiten vor. Sie produzieren vor allem IL-4, IL-5 und IL-13 und interagieren somit mit B-Lymphozyten<sup>35</sup>. T<sub>H</sub>9 Zellen produzieren vornehmlich IL-9 und IL-10 und sind Mediatoren von T<sub>H</sub>-Zellen und Mastzellen<sup>36</sup>. Ihre Rolle in Autoimmunerkrankungen ist noch nicht gänzlich verstanden, proinflammatorische Eigenschaften werden ihnen jedoch zugeschrieben<sup>36</sup>. T<sub>H</sub>17 Zellen produzieren als wichtigste Zytokine IL-17, IL-21 und IL-22 mit denen sie Neutrophile, B-Lymphozyten und die Produktion antimikrobieller Substanzen fördern<sup>37</sup>. T<sub>H</sub>22 Zellen sind charakteristisch in pathologische Geschehnisse wie Entzündungen, Autoimmunreaktionen und Tumorphathogenese involviert, sie sezernieren vor allem IL-22, Tumornekrosefaktoren alpha (TNF $\alpha$ ) und IL-13<sup>38,39</sup>. T<sub>FH</sub> Zellen sind bei der Affinitätsreifung und Antikörperklassenwechsel der B-Lymphozyten im Lymphfollikel beteiligt und unabhängig von den Pathogenarten<sup>40</sup>. T<sub>reg</sub> Zellen regulieren die verschiedenen Subtypen der CD4<sup>+</sup> Zellen, um eine ausufernde Reaktion des Immunsystems zu verhindern und die Entstehung von Autoimmunität zu vermeiden. T<sub>reg</sub> Zellen produzieren in erster Linie das Zytokin IL-10<sup>34,41</sup>.

CD4<sup>+</sup> Subgruppen, wie T<sub>H</sub>17, T<sub>H</sub>22, T<sub>reg</sub> und T<sub>FH</sub> Zellen, exprimieren den CC-chemokine receptor type 6 (CCR6)<sup>42</sup>, der zur Gruppe der G-Protein-gekoppelten-Rezeptoren (GPCR) gehört. Neben den T-Zell-Subgruppen exprimieren B-Zellen, Dendritische Zellen, Natürliche Killerzellen (NK) und Lymphozyten ebenfalls CCR6<sup>43</sup>. Unter physiologischen sowie inflammatorischen Konditionen ist CCR6 in der Migration involviert und somit wichtig für die adaptive Immunantwort. Das Chemokin Cysteine–Cysteine motif chemokine ligand 20 (CCL20) bindet als einziger Ligand an CCR6. Über die CCL20-CCR6-Achse wird die Migration der CCR6<sup>+</sup>-Zellen induziert. T<sub>H</sub>17 und T<sub>reg</sub> Zellen exprimieren im Vergleich zu anderen T-Zell-

Subgruppen hauptsächlich CCR6 und migrieren in CCL20 exprimierendes Gewebe<sup>43</sup>. CCR6 fördert die Differenzierung in T<sub>H</sub>17 Zellen und unterdrückt die T<sub>reg</sub>-Zellfunktion<sup>43</sup> (Abbildung 4).



**Abbildung 4: Differenzierung von naiven CD4<sup>+</sup> Zellen in Effektorzellen und T<sub>reg</sub>-Zellen in Abhängigkeit vom Zytokinmilieu.** Naive aktivierte CD4<sup>+</sup> Zellen können in Treg-Zellen oder verschiedene T-Effektorzellsubtypen differenzieren. Spezifische Zytokine induzieren die T-Zell-Differenzierung. Die Subgruppen sezernieren ihrerseits, für ihre Subgruppen, charakteristische Zytokine und sind in verschiedenen Teilen der Immunantwort involviert. Es wird eine Differenzierungsplastizität der T-Zellen angenommen<sup>44</sup>.

### 2.2.1. Rolle der CD4<sup>+</sup> -T-Helferzellen in der Immunantwort bei SLE

Neben der erhöhten dysfunktionalen B-Zell-Aktivität, die eine wichtige Rolle in der Pathogenese des SLE spielt, verstärken CD4<sup>+</sup> Zellen die Autoimmunantwort, stimulieren B-Zellen<sup>45,46</sup> und fördern die systemische Entzündung durch ihre Zytokinproduktion<sup>47</sup>. Ebenfalls zeichnen sich CD4<sup>+</sup> Zellen bei SLE-Patient:innen durch eine erhöhte Migrationsfunktion aus und tragen so zusätzlich zu Autoimmunentzündungen und Organschäden bei<sup>48</sup>.

An der Pathogenese des SLE sind die verschiedenen CD4<sup>+</sup> Subtypen in vielen Aspekten beteiligt. T<sub>FH</sub> Zellen sind notwendig für die B-Zell-Entwicklung in den Keimzentren und beeinflussen somit auch die Autoantikörperproduktion. Außerhalb der Keimzentren beteiligen sich extrafollikuläre T<sub>FH</sub> Zellen bei der T-B-Zell-Interaktion<sup>49</sup>. Hohe T<sub>H</sub>1 Zellpopulationen wurden bei SLE nachgewiesen und ihr Vorhandensein im Urin korreliert mit der Krankheitsaktivität<sup>50,51</sup>. Das von ihnen sezernierte IL-12 und IFNγ wird mit dem Beginn und dem Fortschreiten von

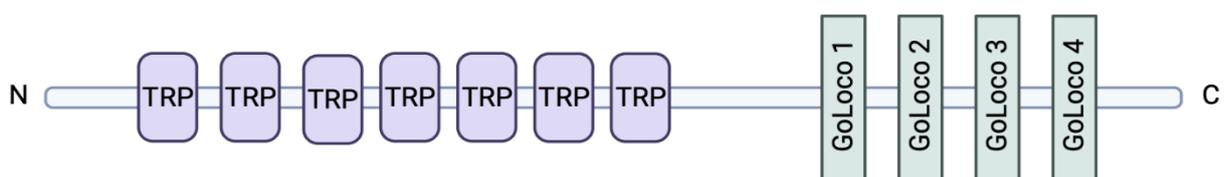
Lupus-Nephritiden in Zusammenhang gebracht.  $\text{IFN}\gamma$  führt zu einer Überexpression von B-cell lymphoma 6 (Bcl-6) in  $T_{\text{FH}}$  Zellen. Dies aktiviert die Keimzentren und die Antikörperproduktion<sup>52,53</sup>. Des Weiteren ist eine herabgesetzte IL-2-Produktion auf gestörte T-Zell-Signalwege zurückzuführen, die eine Dysbalance der  $T_{\text{H}}17/T_{\text{reg}}$ -Zell-Differenzierung vorantreibt und zur Beschleunigung der Organschäden beiträgt<sup>34,54</sup>. CCR6 fördert ebenfalls die Differenzierung in  $T_{\text{H}}17$  Zellen und hemmt die  $T_{\text{reg}}$  Zellen über den Proteinkinase B (AKT)/mammalian target of rapamycin(mTOR)/signal transducers and activators of transcription 3(STAT3)-Signalweg. Die Gewebsveränderungen in den geschädigten Organen tragen ihrerseits zu abnormen  $\text{CD4}^+$  T-Zellphänotypen bei, die wiederherum zu einer Aggravation des SLE führen.

Sowohl die IL-Subtypen als auch die  $T_{\text{H}}1$ -,  $T_{\text{H}}17$ - und  $T_{\text{H}}22$ -Populationen sind bei SLE-Patient:innen deutlich erhöht<sup>42,55</sup>. Ebenfalls konnte eine erhöhte IL-10-Sekretion detektiert werden, die B-Lymphozyten aktiviert und zur Antikörperproduktion beiträgt.

Die T-Zellpopulationen und IL-Sezernierung sind bei SLE verändert und führen mit zur autoimmunen Pathogenese der Erkrankung. Die Normalisierung der T-Zellsubtypen und ihrer IL-Sezernierung ist ein Ziel der SLE-Behandlung.

### 2.3. G-Protein signaling modulator 2

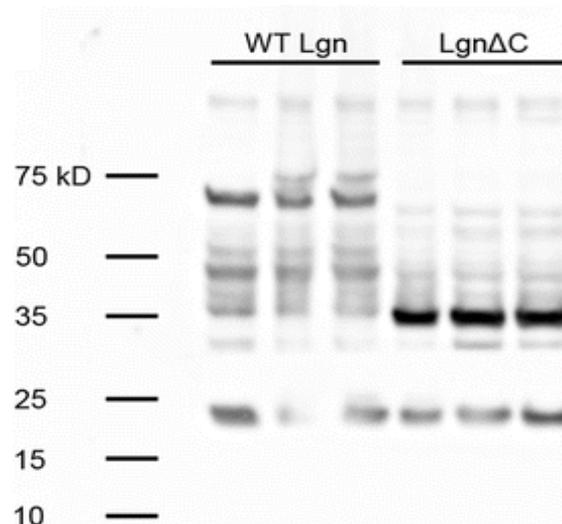
G-Protein signaling modulator 2 (GPSM2) gehört zu der Gruppe der GPCR-Modulierenden-Proteine<sup>56-58</sup>. Seine Funktion ist noch nicht vollständig verstanden. *GPSM2* ist auf Chromosom 1p13.3 lokalisiert und das Protein ist ubiquitär im Körper vorhanden<sup>56,58</sup>. Aufgrund seiner zehn Leucin-Glycin-Asparagin-Wiederholungen<sup>58</sup> ist GPSM2 auch unter dem Namen Leucine-Glycine-Asparagine-Repeat-angereichertes Protein (LGN) oder mammalian Pins bekannt<sup>59</sup>. Aufgebaut ist GPSM2 aus sieben N-Terminal-ständigen tetratricopeptide repeats (TPR) und vier C-Terminal-ständigen  $G\alpha_{i/o}$ -Loco-Motiven (GoLoco)<sup>60</sup> (Abbildung 5). TPRs vermitteln Protein-Protein-Interaktionen<sup>61</sup>, während die GoLoco-Motive mit  $G\alpha$ -Untereinheiten von heterotrimeren G-Proteinen interagieren<sup>60,62</sup>.



**Abbildung 5: Aufbau von GPSM2:** GPSM2 ist aus sieben N-terminalständigen TPRs und vier C-terminalständigen GoLoco-Motiven aufgebaut (Adaptiert von McCudden et al<sup>60</sup>, erstellt mit BioRender).

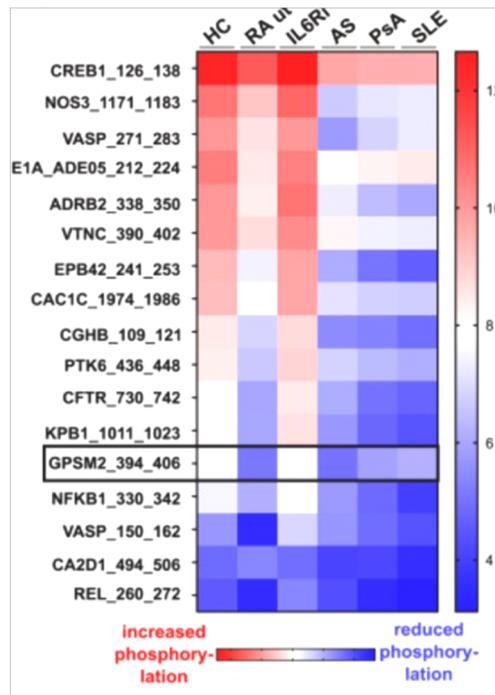
GPSM2 ist an der Regulierung des Spindelapparates, der Mitose, der Zellteilung und der Migration beteiligt<sup>57,60,63,64</sup>. Während der Zellteilung wandert GPSM2 vom Zellkern in das Zytoplasma der Zellen. Dort ist es mit F-Actin kolokalisiert<sup>56,59</sup>. Es existieren verkürzte

Isoformen von GPSM2, darunter ein 35 kDa Protein, die die vier GoLoco-Motive enthält, der aber die N-terminale Region mit den LGN-Wiederholungen fehlt<sup>56,65</sup> (Abbildung 6).



**Abbildung 6: GPSM2 Isoformen:** GPSM2 wird in seiner vollen Länge mit 72 kDa und der 35 kDa Isoform im Westernblot gezeigt<sup>65</sup>.

Neben verschiedenen Längen des Proteins existieren auch unterschiedliche Phosphorylierungsstadien von GPSM2<sup>57,65</sup>. Bei verschiedenen Erkrankungen sind unterschiedliche Mengen an GPSM2 Isoformen zu finden. Unterschiedliche Phosphorylierungen treten in den unterschiedlichen Zellzyklusstadien auf<sup>66</sup>. Bei Erkrankungen wie der RA oder dem SLE wurden im Vergleich zu gesunden Proband:innen grundsätzlich ein anderes Phosphorylierungsniveau von GPSM2 gefunden<sup>57,66</sup> (Abbildung 7). Die Bedeutung der verschiedenen Formen ist noch nicht abschließend verstanden. Jedoch ist die Aktivität von GPSM2 abhängig von Länge, Menge und dem Grad der Phosphorylierung<sup>57,65,66</sup>.



**Abbildung 7:** Kinomprofil verschiedener Kinasen bei gesunden Kontrollen (HC), RA, RA unbehandelt (ut), Ankylosierende Spondylitis (AS), Psoriasis-Arthritis (PsA) und SLE. Das Kinomprofil zeigt eine ausgeprägte Kinaseaktivität/Phosphorylierungsniveau bei HC, RA, RA ut, AS, PsA und SLE. Die Behandlung mit IL-6-Rezeptor-Inhibitoren (IL-6-R-I) hebt die veränderte Kinaseaktivität bei RA auf. GPSM2 ist im schwarzen Kasten hervorgehoben<sup>57</sup>.

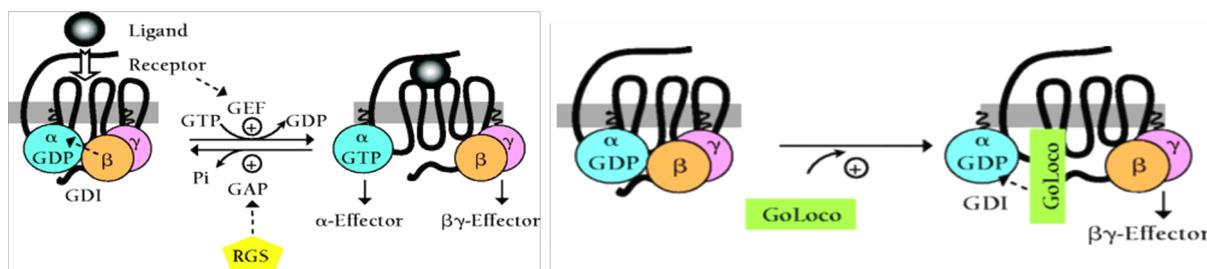
Erkrankungen, die mit GPSM2-Mutationen assoziiert sind, sind der autosomal rezessive nicht-syndromale Hörverlust und Taubheit und Gehirnefehlbildungen<sup>67-69</sup>. Eine veränderte GPSM2-Expression wurde in verschiedenen Karzinomentitäten, wie dem hepatozellulärem Karzinomen (HCC)<sup>63</sup> oder dem Pankreaskarzinom<sup>70</sup>, sowie in Autoimmunerkrankungen wie der RA beschrieben<sup>57</sup>. Die vermehrte GPSM2-Expression erhöht die Invasivität von Karzinomen und die Migrationsfähigkeit der Karzinomzellen über die Aktivierung verschiedener Signalwege<sup>63,71</sup>. Die verringerte GPSM2-Expression in RA setzt die Migrationsfähigkeit der T<sub>reg</sub> Zellen herab<sup>57</sup>.

### 2.3.1. GoLoco-Motive

Die vier verschiedenen GoLoco-Motive stellen Untereinheiten von GPSM2 dar. Sie binden an die G $\alpha$ -Untereinheiten von GPCR und regulieren dadurch deren Funktion und die Dauer der intrazellulären Signalübertragung<sup>56</sup>. GoLoco-Motive weisen eine höhere Affinität zu G $\alpha_i$ - im Vergleich zu G $\alpha_o$ -Untereinheiten auf und binden nicht an andere G $\alpha$ -Untereinheiten<sup>60</sup>. GoLoco-Motive besitzen eine guanosine nucleotide dissociation inhibitor (GDI)-Aktivität, über welche sie die Dissoziation von Guanosindiphosphat (GDP) von der G $\alpha$ -Untereinheit des GPCR verhindert<sup>72-74</sup> (Abbildung 8). Die GoLoco-Motive binden direkt über ihre Arginin-Seitenkette der Asparaginsäure-Glutaminsäure-Arginin-Triaden, den sogenannten „Arginin Finger“, an GDP. In der GoLoco- G $\alpha$ -GDP-Kristallstruktur wird das intrinsische Arginin der G $\alpha$ -Untereinheit aus den  $\alpha$ - und  $\beta$ -Phosphaten von GDP verdrängt. Es entstehen

Wasserstoffbrücken zwischen der Guanidiniumgruppe und dem Ribosezucker des GDP sowie eine Salzbrücke mit Glu43. Diese Paarungen sind sonst in  $G\alpha$ -GDP- $G\beta\gamma$ -Heterotrimeren zu beobachten. In der GoLoco-gebundenen  $G\alpha$ -Struktur binden zwei Arginin-Reste an GDP. Die  $G\alpha$ -Untereinheit bindet in cis- und das GoLoco-Motif in trans-Konformation mit ihren Arginin Fingern an GDP<sup>75</sup>. Durch die Bindung des GDPs anstatt Guanosintriphosphats (GTP) ist die Signalkaskade der  $G\alpha$ -Untereinheit blockiert. Durch die Bindung des GoLoco-Motives an die  $G\alpha$ -Untereinheit kommt es jedoch zu einer Konformationsänderung in der  $G\alpha$ -Untereinheit und somit zu einer Dissoziation der  $G\beta\gamma$ -Untereinheit. Infolge der Dissoziation kommt es zu einer Aktivierung der  $G\beta\gamma$ -Untereinheitssignalkaskade. Normalerweise werden beide Signalkaskaden durch die Bindung von GTP, anstatt von GDP, an der  $G\alpha$ -Untereinheit aktiviert oder inhibiert, während die  $\alpha$ - und  $\beta\gamma$ -Untereinheiten dissoziieren<sup>73,75</sup> (Abbildung 8). Durch die Hydrolyse von GTP zu GDP wird die Aktivität unterbrochen und die Untereinheiten  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  nehmen ihre ursprüngliche, gemeinsame Struktur an<sup>75</sup>.

Eine veränderte Expression von GPSM2 bzw. der GoLoco-Motive beeinflusst die Signalkaskadenaktivierung und somit Migration, Proliferation und Mitose.



**Abbildung 8: Gegenüberstellung des Standard-GDP-GTP-Zyklusmodells mit dem Einfluss von GoLoco-Motiven auf diesen.** Im Standardmodell der heterotrimeren G-Protein-Signalübertragung sind GPCRs mit sieben Transmembrandomänen eng mit einem membrangebundenen Heterotrimer verbunden, das aus den Untereinheiten  $G\alpha$ ,  $G\beta$  und  $G\gamma$  besteht.  $G\beta$  und  $G\gamma$  bilden ein obligates Heterodimer, das eng an GDP-gebundene  $G\alpha$ -Untereinheiten bindet.  $G\beta\gamma$ -Dimere weisen eine GDI-Aktivität auf. Bei der Bindung GTPs statt GDPs an die  $G\alpha$ -Untereinheit dissoziiert die  $G\beta\gamma$ -Untereinheit und die  $G\alpha$ - und  $G\beta\gamma$ -Signalkaskaden werden aktiviert. Die Bindung von GoLoco-Motiven an  $G\alpha$ -GDP schließt die  $G\beta\gamma$ -Bindung aus und ermöglicht so eine spezifische Aktivierung von  $G\beta\gamma$ -Signalkaskaden ohne gleichzeitige Aktivierung von Signalkaskaden, die durch  $G\alpha$ -GTP moduliert werden<sup>73</sup>.

## 2.4. Fragestellungen und Ziel der Arbeit

Die erhöhte  $CD4^+$  T-Zell-Migration und Organinfiltration bei SLE ist noch nicht vollständig verstanden, könnte jedoch grundlegend zur Erkrankung beitragen. GPSM2 beeinflusst die Zellteilung und Migrationsfähigkeiten von Zellen und wird in unterschiedlichen Isoformen und Phosphorylierungsstadien exprimiert. Bislang ist die potenzielle Rolle von GPSM2 und der 35 kDa Isoform in SLE unbekannt.

Das Ziel dieser Arbeit ist die Erforschung der GPSM2-Expression in  $CD4^+$  T-Zellen von SLE-Patient:innen und gesunden Proband:innen sowie die Analyse des Einflusses von GPSM2 auf die Migrationsfähigkeit von  $CD4^+$  Zellen bei SLE. Des Weiteren beschäftigt sich diese Arbeit

mit der gezielten Inhibition von GPSM2 auf die Migrationsfähigkeit von CD4<sup>+</sup> Zellen und welche Auswirkungen diese auf die Behandlung von SLE-Patient:innen haben könnte.

Die Ergebnisse dieser Studie sollen dazu beitragen, das Verständnis von GPSM2 sowie mögliche Behandlungsansätze bei SLE und anderen mit GPSM2 verbundenen Erkrankungen zu vertiefen.



## Truncated isoforms of GPSM2 containing the GoLoco motif region promote CD4<sup>+</sup> T-cell migration in SLE

Ruth L Esser, Carolin Brück, Jan Thiele, Viktoria Golumba-Nagy, Anja Meyer , Eva Steinbach-Knödgen, Shuaifeng Yan, Carola tho Pesch, David Stahl, Joanna Schiller, David M Kofler 

**To cite:** Esser RL, Brück C, Thiele J, *et al.* Truncated isoforms of GPSM2 containing the GoLoco motif region promote CD4<sup>+</sup> T-cell migration in SLE. *Lupus Science & Medicine* 2022;**9**:e000742. doi:10.1136/lupus-2022-000742

Received 2 June 2022  
Accepted 28 July 2022

### ABSTRACT

**Objective** SLE is an autoimmune disease with a complex pathogenesis. T-cell infiltration into organs contributes to inflammation and organ damage in SLE. Recently, G-protein signalling modulator 2 (GPSM2) has been shown to be implicated in T-cell migration.

**Methods** We analysed the expression levels of GPSM2 and of a truncated isoform of GPSM2 containing the GoLoco motif region in CD4<sup>+</sup> T cells from patients with SLE and from healthy individuals by western blot. In a next step, we studied the role of the truncated GPSM2 isoform using a CD4<sup>+</sup> T-cell migration assay.

**Results** Our experiments revealed comparable levels of GPSM2 in CD4<sup>+</sup> T cells from patients with SLE and healthy controls. In contrast, the truncated 35 kDa isoform of GPSM2 was significantly more highly expressed in CD4<sup>+</sup> T cells from patients with SLE as compared with healthy subjects. Antibody-mediated blockade of the 35 kDa GPSM2 isoform reduced the in vitro capacity of CD4<sup>+</sup> T cells to migrate towards the chemokine CCL20.

**Conclusions** A truncated GPSM2 isoform containing the GoLoco motif region is upregulated in CD4<sup>+</sup> T cells from patients with SLE and promotes CD4<sup>+</sup> T-cell migration. Targeting this isoform with specific antibodies might be a promising approach to reduce CD4<sup>+</sup> T-cell infiltration into inflamed tissues and to prevent organ damage in SLE.

### INTRODUCTION

Organ damage induced by immune cells is a common and severe complication in SLE. CD4<sup>+</sup> T cells from patients with SLE are characterised by increased migratory functions and contribute to autoimmune inflammation and organ damage.<sup>1,2</sup> Recently, G-protein signalling modulator 2 (GPSM2) was identified as a promoter of CD4<sup>+</sup> T-cell migration.<sup>3</sup> GPSM2 is also known as Leu-Gly-Asn repeat-enriched protein (LGN) and modulates the activation of G proteins which transduce extracellular signals into integrated cellular responses.<sup>4</sup> The N-terminal part of GPSM2 contains 10 copies of LGN repeats, and the C-terminal part consists of four GoLoco motifs. These GoLoco motifs are short polypeptide sequences that bind to

### Key messages

#### What is already known on this topic

⇒ CD4<sup>+</sup> T-cell infiltration into organs contributes to organ damage in SLE. The mechanisms underlying enhanced T-cell migration in SLE are not fully understood.

#### What this study adds

⇒ A truncated 35 kDa isoform of G-protein signalling modulator 2 (GPSM2) containing the GoLoco motif region is overexpressed in CD4<sup>+</sup> T cells from patients with SLE and facilitates CD4<sup>+</sup> T-cell migration.

#### How this study might affect research, practice or policy

⇒ Targeting the truncated 35 kDa isoform of GPSM2 might help to reduce organ infiltration by CD4<sup>+</sup> T cells in SLE.

specific Gα subunits, thereby regulating the duration of intracellular signalling and the function of GPSM2.<sup>4-6</sup> Several isoforms of GPSM2 have been identified in human subjects, including a 35 kDa protein which is a truncated version of GPSM2 containing the four GoLoco motifs but lacking the N-terminal region with the LGN repeats.<sup>6,7</sup> So far, the potential role of this isoform is unknown. In this study, we aimed to reveal possible alterations in the expression of full-length GPSM2 and of the truncated 35 kDa isoform of GPSM2 which could affect the migratory capacity of CD4<sup>+</sup> T cells in SLE.

### MATERIALS AND METHODS

#### Patients and public involvement

Patients with SLE treated at the University Hospital Cologne were able to voluntarily contribute to this research project by providing blood samples.

#### Samples and CD4<sup>+</sup> T-cell isolation

Peripheral blood (20 mL) was drawn from patients with SLE and from healthy individuals in the outpatient clinic of the University



© Author(s) (or their employer(s)) 2022. Re-use permitted under CC BY-NC. No commercial re-use. See rights and permissions. Published by BMJ.

Department I of Internal Medicine, University Hospital Cologne, Cologne, Germany

**Correspondence to**  
Dr David M Kofler; david.kofler@uk-koeln.de



Esser RL, *et al.* *Lupus Science & Medicine* 2022;**9**:e000742. doi:10.1136/lupus-2022-000742



Hospital Cologne. All patients with SLE fulfilled the 2019 EULAR/ACR classification criteria.<sup>8</sup> None of the patients reported hearing loss. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from patients with SLE and from healthy subjects were isolated using density gradient centrifugation (Pan Biotech, Aidenbach, Germany). In average, about  $4 \times 10^7$  PBMCs were obtained from each donor (from about 20 mL of whole blood). CD4<sup>+</sup> T cells were isolated using MACS T-cell isolation kit (Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Germany). Cell numbers were assessed using the CellCountess (Life Technologies GmbH, Darmstadt, Germany). CD4<sup>+</sup> T cells were purified by negative selection using the CD4<sup>+</sup> T-cell isolation kit using the QuadroMACS device (all Miltenyi Biotec). Purity of the CD4<sup>+</sup> cell population was verified by flow cytometry and was at least 96%. Viable cells were counted using the automated cell counter CellCountess (Life Technologies GmbH). In average, about  $5 \times 10^6$  CD4<sup>+</sup> T cells were obtained from each donor. No significant difference in CD4<sup>+</sup> T-cell numbers was observed between healthy individuals and patients with SLE, but we obtained lower numbers of CD4<sup>+</sup> T cells from a few patients with SLE, including one patient with only  $1 \times 10^6$  CD4<sup>+</sup> T cells.

#### Western blot analysis

Purified human CD4<sup>+</sup> cells were lysed with cell lysis buffer (BioLegend, San Diego, USA), and protein concentration was detected with the BCA Protein Assay Kit (Cell Signalling Technology, Danvers, USA). Lysates were run on 4%–15% gradient polyacrylamide gels (Bio-Rad Laboratories, Munich, Germany). Blotting was performed with the TransBlot Turbo Transfer System (Bio-Rad Laboratories). Protein (25 µg) was loaded per well. Proteins were detected with the following antibodies: HRP murine anti-human β2-Actin antibodies (Abcam, Cambridge, UK), rabbit anti-human GPSM2 antibodies (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA; cat. no. PA5-52555), and anti-rabbit IgG HRP-linked antibodies (Cell Signaling Technology). GPSM2 overexpressing lysate served as a positive control (Novus Biologicals, Centennial, USA; cat. no. NBL1-11310). Detection was performed by ImageJ software (NIH, USA).

#### Migration assay

CD4<sup>+</sup> T cells were cultured for 48 hours and stimulated with plate-bound anti-CD3 (5 µg/mL) and soluble anti-CD28 (1 µg/mL) antibodies. After 48 hours, cells were treated with blocking antibodies binding to the truncated GPSM2 isoform or control antibodies (Thermo Fisher Scientific; cat. no. PA5-115322 and MA5-16384, respectively). To study the specific function of the 35 kDa GPSM2 isoform and neutralise effects of full-length GPSM2, full-length GPSM2 was blocked with rabbit anti-human polyclonal antibodies recognising an N-terminal region of GPSM2 (amino acids 380–490) which do not bind to the 35 kDa isoform (Novus Biologicals, Centennial; cat. no. NBP3-05001). Cells ( $7.5 \times 10^5$ ) were seeded to 6.5 mm transwell with 5 µm pore size (Corning Costar,

New York, USA) under cell culture conditions (5% CO<sub>2</sub>, 37°C) for 4 hours. CCL20 (BioLegend) was used as a chemoattractant. Migrated cells were counted for 60 s using the Gallios 10/3 flow cytometer (Beckman Coulter, Krefeld, Germany).

#### Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SPSS V.28. Where indicated, data were analysed by unpaired or paired Student's t-test and are presented as the mean ± SEM. A p value of <0.05 was considered statistically significant.

## RESULTS

### Truncated 35 kDa isoform of GPSM2 is upregulated in CD4<sup>+</sup> T cells from SLE

We used western blot analysis to determine the expression levels of GPSM2 and its truncated 35 kDa isoform in CD4<sup>+</sup> T cells from healthy individuals and from patients with SLE. The patients' characteristics are summarised in [table 1](#). Our analysis revealed no difference between full-length GPSM2 expression levels in CD4<sup>+</sup> T cells from patients with SLE and healthy individuals. The relative expression of full-length GPSM2 was  $10.571 \pm 1.543$  in SLE compared with  $9.249 \pm 1.821$  in healthy controls ( $p=0.5845$ ) ([figure 1A,B](#)). In contrast, we found an almost 10 times increased expression of the truncated 35 kDa isoform of GPSM2 containing the GoLoco motif region in CD4<sup>+</sup> T cells from patients with SLE as compared with healthy subjects ( $2.311 \pm 0.401$  in SLE vs  $0.257 \pm 0.184$  in healthy controls,  $p=0.0001$ ) ([figure 1C](#)).

### 35 kDa isoform of GPSM2 is facilitates CD4<sup>+</sup> T-cell migration

Because GPSM2 is involved in CD4<sup>+</sup> T-cell migration, we studied the influence of the truncated 35 kDa isoform on the migratory function of CD4<sup>+</sup> T cells from patients with SLE. CD4<sup>+</sup> T cells were activated for 48 hours with anti-CD3 and anti-CD28 antibodies, and their capacity to migrate towards the chemokine CCL-20 was studied in an *in vitro* migration assay ([figure 1D](#)). Migration of CD4<sup>+</sup> T cells was significantly inhibited by antibodies binding to the truncated 35 kDa isoform of GPSM2 as compared with healthy controls ( $1185 \pm 190$  migrated cells vs  $2094 \pm 227$  migrated cells in the control group,  $p=0.0073$ ) ([figure 1E](#)).

## DISCUSSION

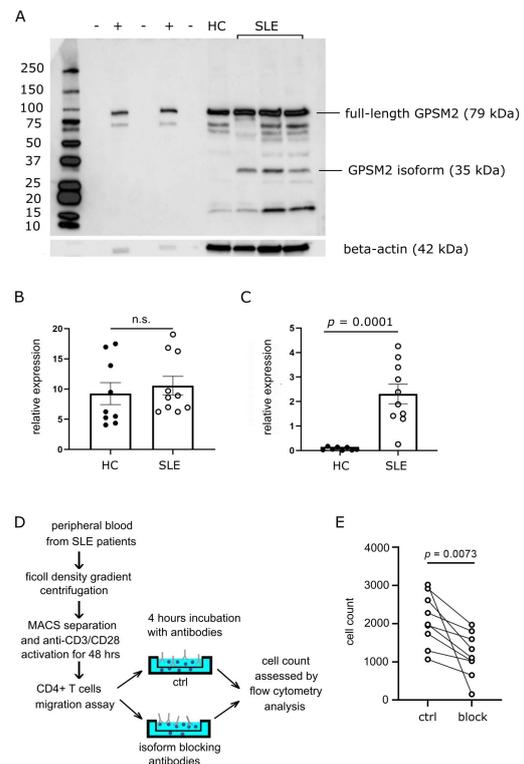
To our knowledge, this is the first report showing that a truncated isoform of GPSM2 containing the GoLoco motif region is significantly upregulated in CD4<sup>+</sup> T cells from patients with an autoimmune disease. We have previously shown that full-length GPSM2 is downregulated in CD4<sup>+</sup> T cells from patients with active rheumatoid arthritis as compared with healthy individuals.<sup>3</sup> In contrast, our recent results revealed no difference in full-length GPSM2 expression between patients with SLE and healthy subjects. However, we found a significantly higher expression of the truncated 35 kDa isoform of GPSM2 containing the GoLoco motif region in CD4<sup>+</sup> T cells from

Table 1 Patients' characteristics		
Characteristics of patients with SLE (n=10)	Normal range	
Sex (male/female)	2/8	
Age (years)	38.6 (21–68)	
Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000 (SLEDAI-2K) score	12 (8–24)	
Anti-dsDNA antibodies (kU/L)	327 (42–1286)	<100
C3 (g/L)	0.65 (0.42–1.9)	0.9–1.8
C4 (g/L)	0.08 (0.07–0.3)	0.1–0.4
Treatment (number of patients)		
Hydroxychloroquine	8	
Prednisolone	5	
Azathioprine	2	
Organ involvement		
Fever (>38.3°C)	1	
Delirium	0	
Psychosis	1	
Seizure	0	
Non-scarring alopecia	3	
Oral ulcers	2	
Subacute cutaneous or discoid lupus	7	
Acute cutaneous lupus	2	
Pleural or pericardial effusion	2	
Acute pericarditis	0	
Joint involvement	5	
Proteinuria (>0.5 g/24 hours)	2	
Lupus nephritis	1	
Laboratory parameter		
ANA ≥1:80	10	
Leucopenia (<4.000/mm <sup>3</sup> )	3	
Thrombocytopenia (<100.000/mm <sup>3</sup> )	2	
Autoimmune haemolysis	0	
Antiphospholipid antibodies	3	
Low C3 or low C4	6	
Low C3 and low C4	3	
Anti-dsDNA or anti-Sm antibodies	10	
Characteristics of healthy controls (n=9)		

Continued

Table 1 Continued		
Characteristics of patients with SLE (n=10)	Normal range	
Sex (male/female)	2/9	
Age (years)	31.6 (24–62)	

patients with SLE as compared with healthy individuals.



**Figure 1** A truncated isoform of GPSM2 promotes CD4<sup>+</sup> T-cell migration in SLE. (A) Representative example of western blot analysis of GPSM2 and the truncated 35 kDa GPSM2 isoform in CD4<sup>+</sup> T cells from patients with SLE (SLE) and HCs. GPSM2 overexpressing lysate served as a positive ctrl (+); no protein served as a negative ctrl (-). (B) Comparison of GPSM2 expression in CD4<sup>+</sup> cells from patients with SLE (n=10) and healthy individuals (n=9). (C) Expression of the truncated GPSM2 isoform in CD4<sup>+</sup> cells from patients with SLE (n=10) and healthy individuals (n=9). (D) Schematic view of the experimental set-up of an in vitro T-cell migration assay. (E) Inhibition of the truncated GPSM2 isoform with blocking antibodies (block) or ctrl antibodies leads to decreased migration of CD4<sup>+</sup> T cells from patients with SLE (n=9). Data are presented as mean±SEM. Significance was calculated using unpaired (B,C) or paired (E) Student's t-test. ctrl, control; GPSM2, G-protein signalling modulator 2; HC, healthy control; n.s., not significant.

Moreover, our data indicate that the truncated 35 kDa isoform of GPSM2 is implicated in CD4<sup>+</sup> T-cell migration in SLE.

We used CCL20 as a chemoattractant in the in vitro migration assay because upregulation of GPSM2 has been linked to elevated CCL20 expression.<sup>9</sup> In addition, the CCL20 receptor CCR6 is abundantly expressed on Th17 cells, T helper 22 (Th22) cells, Treg cells and a small percentage of follicular T-helper cells. Growing evidence suggests that these cell types are involved in the pathogenesis of SLE, and it has been shown that the amount of kidney-infiltrating Th17 cells is associated with clinical parameters like urine protein level in glomeruli, serum creatinine and creatinine clearance in active lupus nephritis.<sup>10–12</sup> Moreover, elevated levels of CCR6+ Th22 cells correlate with skin and renal impairment in SLE.<sup>13</sup> Enhanced migration of CCR6+CD4<sup>+</sup> T cells towards CCL20 due to elevated expression of the 35 kDa isoform might therefore represent a possible pathogenic mechanism of immune infiltration and organ damage in SLE.

Truncated isoforms of GPSM2 have been recently identified in human subjects and have been linked to hearing loss.<sup>7</sup> Interestingly, hearing loss occurs significantly more often in patients with SLE as compared with healthy individuals.<sup>14</sup> Here we show that the truncated isoform of GPSM2 containing the GoLoco motif region promotes CD4<sup>+</sup> T-cell migration and is overexpressed in patients with SLE. This mechanism may explain the enhanced migratory capacity of CD4<sup>+</sup> T cells in SLE. Targeting of the truncated GPSM2 isoform with specific antibodies could therefore represent a possible strategy to inhibit CD4<sup>+</sup> T-cell infiltration into inflamed tissues and to reduce organ damage in SLE.

**Contributors** RLE, CB, JT, VG-N, AM, ES-K and SY performed the experiments. RLE, CIP, DS, JS and DMK analysed the data. All authors contributed to the discussion of results. DMK drafted the manuscript. All authors contributed to, read and approved the final version of the manuscript.

**Funding** This work was supported by grants from the Faculty of Medicine of the University of Cologne (grants 233/2017, 330/2018, 324/2020, 369/2020, 479/2020 and 480/2020 to DMK) and by the Fritz Thyssen foundation (10.17.2.019MN to DMK).

**Competing interests** None declared.

**Patient consent for publication** Not applicable.

**Ethics approval** This study involves human participants and was approved by the ethics committee of the University Hospital Cologne (number 13-091). The participants gave informed consent to participate in the study before taking part.

**Provenance and peer review** Not commissioned; externally peer reviewed.

**Open access** This is an open access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited, appropriate credit is given, any changes made indicated, and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

#### ORCID iDs

Anja Meyer <http://orcid.org/0000-0001-9904-5070>

David M Kofler <http://orcid.org/0000-0001-6164-3980>

#### REFERENCES

- Chen P-M, Tsokos GC. T cell abnormalities in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus: an update. *Curr Rheumatol Rep* 2021;23:12.
- Harada T, Kytitaris V, Li Y, et al. Increased expression of STAT3 in SLE T cells contributes to enhanced chemokine-mediated cell migration. *Autoimmunity* 2007;40:1–8.
- Meyer A, Yan S, Golumba-Nagy V, et al. Kinase activity profiling reveals contribution of G-protein signaling modulator 2 deficiency to impaired regulatory T cell migration in rheumatoid arthritis. *J Autoimmun* 2021;124:102726.
- Blumer JB, Chandler LJ, Lanier SM. Expression analysis and subcellular distribution of the two G-protein regulators AGS3 and LGN indicate distinct functionality. Localization of LGN to the midbody during cytokinesis. *J Biol Chem* 2002;277:15897–903.
- Khafizov K. GoLoco motif proteins binding to Gαβ1: insights from molecular simulations. *J Mol Model* 2009;15:1491–9.
- McCudden CR, Willard FS, Kimple RJ, et al. G alpha selectivity and inhibitor function of the multiple GoLoco motif protein GPSM2/LGN. *Biochim Biophys Acta* 2005;1745:254–64.
- Bhonker Y, Abu-Rayyan A, Ushakov K, et al. The GPSM2/LGN GoLoco motifs are essential for hearing. *Mamm Genome* 2016;27:29–46.
- Aringer M, Costenbader K, Daikh D, et al. 2019 European League against Rheumatism/American College of rheumatology classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2019;78:1151–9.
- Gu Y, Feng Q, Liu H, et al. Bioinformatic evidences and analysis of putative biomarkers in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Heliyon* 2019;5:e02378.
- Wang Y, Ito S, Chino Y, et al. Laser microdissection-based analysis of cytokine balance in the kidneys of patients with lupus nephritis. *Clin Exp Immunol* 2010;159:1–10.
- Shah K, Lee W-W, Lee S-H, et al. Dysregulated balance of Th17 and Th1 cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2010;12:R53.
- Kshirsagar S, Riedl M, Billing H, et al. Akt-Dependent enhanced migratory capacity of Th17 cells from children with lupus nephritis. *J Immunol* 2014;193:4895–903.
- Zhong W, Jiang Y, Ma H, et al. Elevated levels of CCR6<sup>+</sup> T helper 22 cells correlate with skin and renal impairment in systemic lupus erythematosus. *Sci Rep* 2017;7:12962.
- Yuen E, Fried J, Nguyen SA, et al. Hearing loss in patients with systemic lupus erythematosus: a systematic review and meta-analysis. *Lupus* 2021;30:937–45.

## 4. Diskussion

### 4.1. Die 35 kDa GPSM2 Isoform bei SLE

In der aktuellen Arbeit konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass bei SLE-Patient:innen GPSM2 sowohl in der vollen 79 kDa Isoform, als auch in einer verkürzten 35 kDa Isoform in CD4<sup>+</sup> Zellen vorkommt. Diese 35 kDa Isoform enthält weiterhin die Region mit einem GoLoco-Motiv.

Die Verkürzung eines Proteins kann dazu führen, dass seine Funktion erhöht, erniedrigt oder nicht beeinflusst wird. Ebenso kann das Protein im Resultat autoreaktiv oder krebserregend sein<sup>76,77,78</sup>. Verkürzte Isoformen können häufig als Biomarker oder für eine zielgerichtete Therapie genutzt werden<sup>76</sup>. Beim HCC ist GPSM2 ein unabhängiger Prognosefaktor und wird als Biomarker diskutiert<sup>79</sup>. Die verkürzte 35 kDa Isoform von GPSM2 ist bei Patient:innen mit SLE im Vergleich zu gesunden Proband:innen signifikant vermehrt exprimiert, wohingegen es keinen Unterschied in der Expression von GPSM2 in seiner vollen Länge zwischen den beiden Gruppen gibt. Somit könnte die 35 kDa Isoform ein Biomarker für SLE darstellen. Ob die 35 kDa Isoform eine Rolle als Prognosefaktor spielen könnte, kann derzeit noch nicht beurteilt werden. Auch ab welchem Zeitpunkt im Krankheitsverlauf die Isoform auftritt und ob sie konstant oder abhängig von der Krankheitsaktivität vorliegt, ist noch nicht bekannt. Um dies herauszufinden, müsste zunächst die GPSM2 Expression im Krankheitsverlauf analysiert werden und eine mögliche Korrelation mit der Krankheitsaktivität und dem Überleben überprüft werden.

Ergibt sich hier ein richtungsweisender Zusammenhang, könnte in einem weiteren Schritt eine Therapie zur Normalisierung oder Blockierung von GPSM2 entwickelt werden, die sich möglicherweise positiv auf die Krankheitsaktivität und das Überleben auswirken könnte.

### 4.2. GPSM2 und Migration der CD4<sup>+</sup> Zellen

Die Migration von CD4<sup>+</sup> Zellen in Organe ist bei SLE erhöht und führt zu deren Schädigung<sup>48</sup>. Um die Korrelation zwischen einer erhöhten GPSM2 Expression und verstärkter CD4<sup>+</sup> Zell-Migration bei SLE nachzuweisen, wurde der Zusammenhang mittels Migrationsassay untersucht. Die CD4<sup>+</sup> Zellen migrierten bei SLE verstärkt im Vergleich zu der gesunden Kontrollgruppe. Bei der spezifischen antikörpervermittelten Blockade von GPSM2 konnte die Migration der CD4<sup>+</sup> Zellen signifikant vermindert werden. Die Ergebnisse sind konkordant zu der herabgesetzten Migration von regulatorischen T<sub>reg</sub> Zellen durch die verringerte Expression von GPSM2 bei RA<sup>57</sup>.

Die gezielte Blockade von GPSM2 könnte folglich einen Behandlungsansatz gegen die gesteigerte Migration der CD4<sup>+</sup> Zellen bei SLE bieten. Zurzeit sind keine GPSM2-Blocker *in vivo* verfügbar, sodass in einem nächsten Schritt ein SLE-Mausmodell mit und ohne GPSM2

Knockout etabliert werden müsste. Parameter könnten hier die CD4<sup>+</sup> Zell Migration in die Organe sowie Nebenwirkungen des Knockouts darstellen.

Wie zuvor genannt, ist GPSM2 signifikant erhöht exprimiert in einigen Tumorentitäten<sup>63,70,80,81</sup>, die eine erhöhte Proliferations- und Migrationsfähigkeit der Tumorzellen aufweisen<sup>63,70,82</sup>.

Falls bei den Experimenten ebenfalls die Migration reduziert werden könnte, wäre dies ein möglicher Ansatz der Behandlung von metastasierenden Karzinomen bzw. Hochrisiko-Patient:innen sowie weiteren Erkrankungen, die eine vermehrte GPSM2 Expression aufweisen.

Weshalb bei der gesunden Kontrollgruppe keine signifikante Blockade erreicht werden konnte, ist unklar. Bei der spezifischen antikörpervermittelten Blockade von vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP) bei RA wurden die T<sub>reg</sub> Zellen nicht jedoch andere T<sub>eff</sub> Zellen blockiert<sup>83</sup>. Eine Analyse der CD4<sup>+</sup> Zell-Untergruppen bei SLE und des Einflusses der GPSM2-Blockade auf diese sollte folgen. Der unterschiedliche Einfluss einer Blockade auf die CD4<sup>+</sup> Zell-Untergruppen könnte mit einer unterschiedlichen T Zell-Zusammensetzung erklärt werden.

Eine andere Erklärung könnte das gesamt erhöhte GPSM2 bei SLE oder ein effektiveres Bindungsverhalten der Antikörper an die verkürzte Isoform darstellen. Für ein besseres Verständnis sollten Bindungskurven der 35 kDa und 79 kDa Isoform mit den Antikörpern erstellt werden. Falls die unterschiedliche Effektivität auf das Bindungsverhalten oder die Menge von GPSM2 zurückzuführen wäre, könnte man von einer spezifischeren Wirkung entweder auf die Isoform und/oder auf die Zellen mit erhöhtem GPSM2 ausgehen. Des Weiteren könnte die Modellierung eines nur an die 35 kDa Isoform bindenden Antikörpers bei SLE von Vorteil sein. Andere Erkrankungen mit einer veränderten Expression der Isoform mit voller Länge würden davon nicht beeinflusst.

#### 4.3. Rolle von GPSM2 bei der CD4<sup>+</sup> Zellproliferation bei SLE

GPSM2 ist an der Mitose, der Proliferation und der Migration von Zellen beteiligt. Dies wirft die Frage auf, wie die Proliferation der CD4<sup>+</sup> Zellen bei SLE bei einer gezielten GPSM2-Blockade beeinflusst wird. Bei einer primären *in vitro* Analyse sollte sich zum Einen auf die Gesamtheit der CD4<sup>+</sup> Zellen und zum Anderen auf die verschiedenen Untergruppen konzentriert werden, um zu klären, ob diese in unterschiedlichem Maße von der Blockade betroffen sind.

In einem weiteren Schritt sollten die Experimente *in vivo* wiederholt werden. Die zu klärende Frage ist, ob die Proliferation der CD4<sup>+</sup> Zellen sowie der Untergruppen bei einem SLE-Mausmodell durch einen GPSM2 Knockout signifikant geändert wird und ob dies einen Einfluss auf die Krankheitsaktivität hat.

#### 4.4. GPSM2 bei Tumoren und SLE

In manchen Studien wird ein erhöhtes Krebsrisiko bei SLE beschrieben<sup>84,85</sup>. GPSM2 ist signifikant erhöht exprimiert in Tumorentitäten wie Pankreas-, Hepatozellulären- und duktalem Mammakarzinomen<sup>63,70,80,81</sup>, damit einhergehend wurde eine erhöhte Proliferations- und Migrationsfähigkeit der Tumorzellen gezeigt<sup>63,70,82</sup>. GPSM2 könnte somit auch bei den Tumorentitäten, die bei SLE auftreten, eine Rolle spielen. Für einen klaren Zusammenhang gibt es jedoch zurzeit zu wenig Daten, die beide verbinden. Tumore, die bei SLE auftreten, sollte auf GPSM2-Veränderungen überprüft werden, um einen Zusammenhang zu erforschen.

Bei den zuvor genannten Tumorentitäten sowie bei RA ist bisher nur von einer veränderten Expression des Proteins mit voller Länge bekannt<sup>57,63,70,80,81</sup>. Dies könnte jedoch auch auf ein Nicht-Beachten der 35 kDa Isoform zurückzuführen sein. Die 35 kDa Isoform beinhaltet das GoLoco-Motif und kann somit andere Proteine regulieren bzw. mit ihnen interagieren<sup>56</sup> und ist somit eine aktive Isoform von GPSM2. Eine Westernblot-Überprüfung der anderen Erkrankungen könnte klären, ob die 35 kDa Isoform dort ebenfalls vermehrt vorliegt.

Hu et al. fanden bei Pankreaskarzinomen-Zellen eine veränderte Phosphorylierung<sup>86</sup>, ähnlich wie Meyer et al. u.a. bei RA und SLE<sup>57</sup>. Hu et al. konnten des Weiteren verschiedene genetische Veränderungen bei GPSM2 zeigen und Mutationsstellen identifizieren, die vor allem gehäuft bei Endometriumkarzinomen auftraten<sup>86</sup>. Bei SLE sind solche Mutationsstellen bislang unbekannt. Hier könnte analog eine Mutationsstellen-Analyse erfolgen, die ggf. einen Behandlungsansatz auf genetischer Basis bieten könnte. Ein Hindernis könnte eine zu hohe Varietät der Mutationsstellen darstellen, was die hohe Variabilität bei Karzinom vermuten lässt<sup>86</sup>.

#### 4.5. GPSM2 Signalweg bei SLE

Die Studie ist erst ein Anfang zum Verständnis der Rolle von GPSM2 in SLE. Der Signalweg von GPSM2 in SLE ist noch nicht verstanden.

In verschiedenen Tumorentitäten konnte jedoch der Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K)/AKT-Signalweg identifiziert werden. In HCC aktiviert GPSM2 über den PI3K/AKT-Signalweg eine gesteigerte Migration und Invasivität des Tumors. Der PI3K-AKT-Signalweg spielt eine Rolle für die Zellproliferation und das Überleben im gesunden Zustand sowie bei einer Vielzahl von Karzinomentitäten, wenn dieser dysreguliert ist. Interessanterweise ist bei SLE-Mausmodellen AKT2 stark überexprimiert und hauptverantwortlich für die Veränderung des PI3K-AKT-Signalweges<sup>87</sup>. Weiterhin wurden erhöhte T<sub>H</sub>17-Zellen und Autoantikörper mit einer Aktivierung des PI3K/AKT/mTOR-Signalweges assoziiert. Rapamycin ist ein wirksamer Inhibitor der Antigen-induzierten Proliferation von T-Zellen und der Antikörperproduktion. Eine solche Blockade der T-Zell-Aktivierung hat sich als wirksam erwiesen, um die Entwicklung einer systemischen entzündlichen Autoimmunerkrankung sowohl in Tiermodellen als auch bei Patient:innen mit SLE zu hemmen<sup>88,89</sup>. Der PI3K/AKT/mTOR-Signalweg ist von zentraler Bedeutung für die Krankheitsaktivität bei SLE<sup>90</sup>.

Im Gegensatz zu den anderen Tumorentitäten konnte bei Non Small Cell Lung Cancer (NSCLC) eine herunterregulierte GPSM2-Expression mit einhergehender extracellulär signal-regulated kinases (ERK)/glycogen synthase kinase-3 $\beta$ (GSK3B)/Snail pathway Aktivierung und Metastasierung gezeigt werden<sup>71</sup>.

Hier gilt es in einem weiteren Schritt den genauen Signalweg, den GPSM2 bei SLE auslöst, zu erforschen. In Anbetracht der erhöhten Expression von GPSM2-Isoformen, wie bei dem HCC, erscheint der PI3K/AKT/mTOR-Signalweg der naheliegendere zu sein und sollte daher zuerst im Fokus weiterer Forschung stehen. Hier könnte zuerst *in vitro* und folgend *in vivo* in SLE-Mausmodellen die Auswirkung einer Rapamycinbehandlung gemessen werden. Aktiviert GPSM2 ebenfalls den PI3K/AKT/mTOR-Signalweg, würde die Behandlung mit AKT/mTOR-Inhibitoren, die schon klinisch erprobt und zugelassen sind, beispielsweise beim Mamma-Karzinom, Nierenzellkarzinom oder zur Prophylaxe einer Transplantatabstoßung nach allogener Organtransplantation, eine weitere Ansatzmöglichkeit bieten<sup>91,92</sup>.

#### **4.6. IL-6 und GPSM2 bei SLE**

Bei SLE-Patient:innen wird eine erhöhte IL-6-Ausschüttung gemessen<sup>93</sup>. Diese wird mit der B-Zell-Hyperaktivität sowie der T-Zell-Aktivität in der Pathogenese bei SLE in Verbindung gebracht und korreliert mit der Krankheitsaktivität<sup>93,94</sup>. IL-6 gehört zu den proinflammatorischen Interleukinen und wird als Reaktion auf Infektionen und Gewebeverletzungen gebildet. IL-6 trägt durch die Stimulierung von Akutphasenreaktionen, Hämatopoese und Immunreaktionen zur Pathogenbekämpfung bei<sup>95</sup>. Eine dysregulierte kontinuierliche Synthese von IL-6 fördert jedoch chronische Entzündungen und Autoimmunität<sup>96,97</sup>. Beim Einsatz von IL-6-Rezeptorinhibitoren (IL-6-R-I) konnte ein positiver Effekt auf den Krankheitsverlauf bei SLE gezeigt werden. In Studien wurden verringerte Titer von anti-dsDNA, eine verringerte B-Zell-Proliferation und eine partielle T-Zell-Herabregulierung festgestellt. Bei RA konnten Anja

Meyer et al. mit IL-6-R-I eine normale Phosphorylierung von GPSM2 bei den Patient:innen erreichen<sup>57</sup>. Weiterhin führte die Behandlung zu einer Normalisierung der zuvor reduzierten T<sub>reg</sub>-Zell-Migration und einer Verringerung der Erkrankungsaktivität. Der Einsatz von IL-6-R-I bei SLE-Patient:innen könnte die Krankheitsaktivität wie auch die Phosphorylierung von GPSM2 normalisierend beeinflussen. Sollte dies wie bei RA eintreten, könnte die Phosphorylierung von GPSM2 als Kontrollparameter der IL-6-R-I-Therapie genutzt werden. In weiteren Studien sollte es von Interesse sein, die Phosphorylierung von GPSM2 bei IL-6-R-I behandelten Patient:innen oder vorab *in vitro* zu messen und deren Einfluss auf das Migrationsverhalten von den CD4<sup>+</sup> Zellen.

IL-6 ist ebenfalls in Pankreas- und Hepatozellulären Karzinomen signifikant erhöht exprimiert<sup>97-99</sup>. In duktalem Mammakarzinomen ist es ebenfalls erhöht exprimiert und korreliert mit dem Tumor-, Lymphknoten-, Östrogenrezeptor- (ER), und human epidermal growth factor receptor 2 (Her2/neu)-Status<sup>100</sup>. GPSM2 liegt in diesen Tumorentitäten vermehrt vor. Die Phosphorylierung von GPSM2 in Tumoren ist bisher noch unbekannt. Welche genaue Bedeutung die zu Gesunden abweichende Phosphorylierung von GPSM2 hat, ist ebenfalls noch nicht gänzlich verstanden. Der Einsatz von IL-6-R-I bei Tumoren sollte wegen der anti-inflammatorischen Wirkung sowie den positiven Effekten in vielen Studien, auch in Bezug auf GPSM2, diskutiert und erforscht werden.

In den Experimenten wurden CD4<sup>+</sup> Zellen untersucht. Die verschiedenen Subgruppen unterscheiden sich in ihrer Interleukin-Sezernierung und ihren Effekten in der Immunantwort. Eine Analyse der Migration der Subgruppen bei GPSM2-Blockade und/oder IL-6-R-I könnte somit weiteren Aufschluss auf die Haupteffekte der Blockaden geben. Weiterhin könnte man den Einfluss von IL-6-R-I auf die T<sub>H</sub>17/T<sub>reg</sub>-Ratio messen. Dies könnte einen weiteren Behandlungsansatz bei SLE bieten, sowie neue Einblicke in die Pathogenese und Signalwege liefern.

#### **4.7. CCL20 und GPSM2 bei SLE**

CCR6 und CCL20 sind in eine Vielzahl von Entzündungs-, Autoimmun- und malignen Prozessen involviert. Die Chemokin-Achse ist auch bei der Regulierung der humoralen Immunreaktionen beteiligt. Die CD4<sup>+</sup> T Zell-Subgruppen exprimieren, ebenso wie B-Zellen, Dendritische Zellen, Natürliche Killerzellen (NK) und Lymphozyten, den CCR6. CCR6 bindet als einziger Rezeptor das Chemokin CCL20<sup>43</sup>. CCR6 und CCL20 liegen in einer erhöhten Expression bei SLE vor. Die Expression von CCR6 korreliert mit der Krankheitsaktivität und serologischen Markern für den Schweregrad der Erkrankung, was auf eine mögliche Rolle bei der Krankheitsentstehung hindeutet. Eine erhöhte CCL20 Expression wird ebenfalls bei Pankreaskarzinomen mit einer Hochregulierung von GPSM2 in Verbindung gebracht. Wir verwendeten CCL20 als Chemokin im *in vitro* Migrationsassay<sup>101,102</sup>. Der CCL20 Rezeptor, CCR6, wird auf T<sub>H</sub>17 Zellen, T<sub>H</sub>22 Zellen, T<sub>reg</sub> Zellen und einem kleinen Prozentsatz von T<sub>FH</sub>

Zellen reichlich exprimiert. Diese Subgruppen der CD4<sup>+</sup> Zellen werden mit der Pathogenese des SLE in Zusammenhang gebracht<sup>42</sup>. Erhöhte Konzentrationen von CCR6<sup>+</sup> T<sub>H</sub>22 Zellen wurden bei Haut- und Nierenschäden bei SLE gefunden<sup>42</sup>. Die Menge niereninfiltrierender T<sub>H</sub>17 Zellen korrelieren mit klinischen Parametern wie dem Urinproteinspiegel, dem Serumkreatinin und der Kreatinin-Clearance bei aktiver Lupusnephritis<sup>54,103,104</sup>. T<sub>H</sub>17 Zellen produzieren ihrerseits CCL20, was vermehrt T<sub>H</sub>17 Zellen induziert und als Chemokin auf alle CCR6<sup>+</sup> Zellen wirkt. Eine verstärkte Migration von CCR6<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Zellen in Richtung CCL20, aufgrund der erhöhten Expression der 35 kDa Isoform, könnte daher ein möglicher Pathomechanismus der CD4<sup>+</sup> T-Zellinfiltration und Organschädigung bei SLE sein. Die gezielte Bekämpfung der verkürzten GPSM2 Isoform mit spezifischen Antikörpern könnte eine mögliche Strategie zur Hemmung der Infiltration von CD4<sup>+</sup> Zellen in entzündetes Gewebe und zur Verringerung von Organschäden bei SLE darstellen. Da CCR6 die T<sub>H</sub>17 Zell-Differenzierung fördert und die T<sub>reg</sub> Zell-Funktion unterdrückt, könnte auch eine Blockade des CCR6 in Betracht gezogen werden<sup>43</sup>. CCR6 unterdrückt die T<sub>reg</sub> Zell-Funktion über den AKT/mTor/STAT3-Signalweg, sodass auch hier der Einsatz von AKT/mTOR-Inhibitoren geprüft werden sollte.

#### **4.8. GPSM2 bei SLE und die Verbindung zu Hörverlust**

Verkürzte Isoformen von GPSM2 beim Menschen wurden identifiziert und mit Hörverlust in Verbindung gebracht<sup>65</sup>. Hörverlust tritt signifikant vermehrt bei SLE-Patient:innen im Vergleich zur gesunden Bevölkerung auf<sup>105</sup>. Ob dem jedoch die vermehrt vorliegende GPSM2 Isoform zugrunde liegt, ist nicht bewiesen. Zur Aufklärung der Rolle von GPSM2 bei dem Hörverlust bei SLE-Patient:innen könnte ein Mausmodell mit SLE Mäusen mit und ohne GPSM2 Isoformen helfen. Dies könnte in Anlehnung an den Versuchsaufbaus von Y. Bohnker et al. erfolgen, wobei hier klarerweise nicht die CD4<sup>+</sup> Zellen von belangen wären, sondern eine Analyse der inneren Haarzellen bei SLE-Patient:innen.

#### 4.9. Zusammenfassung

Die verringerte Phosphorylierung von GPSM2 bei SLE im Kinomprofil bei Meyer et al. führte zur weiteren Untersuchung von GPSM2 bei SLE in dieser Arbeit<sup>57</sup>. Hierbei wurde zum ersten Mal eine erhöhte Menge an der 35 kDa Isoform bei SLE nachgewiesen. Die erhöhte Migration von CD4<sup>+</sup> Zellen bei SLE konnte durch eine gezielte GPSM2 Antikörperblockade *in vitro* reduziert werden.

Diese Arbeit bietet damit ein besseres Verständnis für GPSM2 bei SLE. Die noch nicht vollständig verstandenen Signalwege und Interaktionsweisen von GPSM2 bedürfen jedoch weiterer Forschung, um im Sinne eines konkreten Behandlungsansatzes gezielt in dessen immunologische Funktion einzugreifen.

Dafür sollten die *in vitro* durchgeführten Versuche im nächsten Schritt in einem SLE-Mausmodell wiederholt werden. Zur Analyse, ob bei SLE der PI3K-AKT-Signalweg betroffen ist, könnte *in vitro* wie *in vivo* eine Rapamycin-Behandlung durchgeführt werden, um anschließend die T<sub>reg</sub>-Zell-Funktion, die T<sub>H</sub>17-Zell-Anzahl und Autoantikörper zu analysieren. (Sollte nicht diese Signalachse betroffen sein, kann in einem weiteren Schritt der GSK3B/Snail pathway überprüft werden.)

Ebenfalls gilt es, ein Augenmerk auf die IL-6-R-I bei SLE *in vivo* und *in vitro* zu legen und zu analysieren, ob diese die Phosphorylierung von GPSM2 normalisiert und welche Einflüsse das auf die Migration von CD4<sup>+</sup> Zellen in die Organe und somit auf die Krankheitsaktivität hat.

Zusätzlich sollte der Einfluss von GPSM2 auf die Proliferation der CD4<sup>+</sup> Zellen bei SLE geprüft werden.

## 5. Literaturverzeichnis

1. Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2011; **365**(22): 2110-21.
2. Kuhn A, Bonsmann G, Anders HJ, Herzer P, Tenbrock K, Schneider M. The Diagnosis and Treatment of Systemic Lupus Erythematosus. *Dtsch Arztebl Int* 2015; **112**(25): 423-32.
3. Scofield RH. Genetics of systemic lupus erythematosus and Sjogren's syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 2009; **21**(5): 448-53.
4. International Consortium for Systemic Lupus Erythematosus G, Harley JB, Alarcon-Riquelme ME, et al. Genome-wide association scan in women with systemic lupus erythematosus identifies susceptibility variants in ITGAM, PTK, KIAA1542 and other loci. *Nat Genet* 2008; **40**(2): 204-10.
5. Roozendaal R, Carroll MC. Complement receptors CD21 and CD35 in humoral immunity. *Immunol Rev* 2007; **219**: 157-66.
6. Manderson AP, Botto M, Walport MJ. The role of complement in the development of systemic lupus erythematosus. *Annu Rev Immunol* 2004; **22**: 431-56.
7. Ghodke-Puranik Y, Niewold TB. Immunogenetics of systemic lupus erythematosus: A comprehensive review. *J Autoimmun* 2015; **64**: 125-36.
8. Choi J, Kim ST, Craft J. The pathogenesis of systemic lupus erythematosus-an update. *Curr Opin Immunol* 2012; **24**(6): 651-7.
9. Munoz LE, Lauber K, Schiller M, Manfredi AA, Herrmann M. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol* 2010; **6**(5): 280-9.
10. Davis MLR, LeVan TD, Yu F, et al. Associations of toll-like receptor (TLR)-4 single nucleotide polymorphisms and rheumatoid arthritis disease progression: an observational cohort study. *Int Immunopharmacol* 2015; **24**(2): 346-52.
11. Lampropoulou V, Hoehlig K, Roch T, et al. TLR-activated B cells suppress T cell-mediated autoimmunity. *J Immunol* 2008; **180**(7): 4763-73.
12. Ruprecht CR, Lanzavecchia A. Toll-like receptor stimulation as a third signal required for activation of human naive B cells. *Eur J Immunol* 2006; **36**(4): 810-6.
13. Jiang W, Lederman MM, Harding CV, Rodriguez B, Mohner RJ, Sieg SF. TLR9 stimulation drives naive B cells to proliferate and to attain enhanced antigen presenting function. *Eur J Immunol* 2007; **37**(8): 2205-13.
14. Fillatreau S, Manfroi B, Dorner T. Toll-like receptor signalling in B cells during systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Rheumatol* 2021; **17**(2): 98-108.
15. Lee YH, Choi SJ, Ji JD, Song GG. Association between toll-like receptor polymorphisms and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis update. *Lupus* 2016; **25**(6): 593-601.
16. Pisitkun P, Deane JA, Difilippantonio MJ, Tarasenko T, Satterthwaite AB, Bolland S. Autoreactive B cell responses to RNA-related antigens due to TLR7 gene duplication. *Science* 2006; **312**(5780): 1669-72.
17. Garcia-Ortiz H, Velazquez-Cruz R, Espinosa-Rosales F, Jimenez-Morales S, Baca V, Orozco L. Association of TLR7 copy number variation with susceptibility to childhood-onset systemic lupus erythematosus in Mexican population. *Ann Rheum Dis* 2010; **69**(10): 1861-5.
18. Wang CM, Chang SW, Wu YJ, et al. Genetic variations in Toll-like receptors (TLRs 3/7/8) are associated with systemic lupus erythematosus in a Taiwanese population. *Sci Rep* 2014; **4**: 3792.
19. Tsokos GC, Kammer GM. Molecular aberrations in human systemic lupus erythematosus. *Mol Med Today* 2000; **6**(11): 418-24.
20. Harley JB, Moser KL, Gaffney PM, Behrens TW. The genetics of human systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Immunol* 1998; **10**(6): 690-6.
21. Tamirou F, Arnaud L, Talarico R, et al. Systemic lupus erythematosus: state of the art on clinical practice guidelines. *RMD Open* 2018; **4**(2): e000793.
22. Davidson A. What is damaging the kidney in lupus nephritis? *Nat Rev Rheumatol* 2016; **12**(3): 143-53.
23. Fischer-Betz R, Herzer P, Schneider M. [Systemic lupus erythematosus]. *Dtsch Med Wochenschr* 2005; **130**(43): 2451-8; quiz 9-60, 61-2.

24. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol* 2019; **71**(9): 1400-12.
25. Zen M, Salmaso L, Barbiellini Amidei C, et al. Mortality and causes of death in systemic lupus erythematosus over the last decade: Data from a large population-based study. *Eur J Intern Med* 2023; **112**: 45-51.
26. Cervera R, Khamashta MA, Font J, et al. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. *Medicine (Baltimore)* 2003; **82**(5): 299-308.
27. Hanly JG, O'Keefe AG, Su L, et al. The frequency and outcome of lupus nephritis: results from an international inception cohort study. *Rheumatology (Oxford)* 2016; **55**(2): 252-62.
28. Boyce EG, Fusco BE. Belimumab: review of use in systemic lupus erythematosus. *Clin Ther* 2012; **34**(5): 1006-22.
29. Fanouriakis A, Kostopoulou M, Andersen J, et al. EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus: 2023 update. *Ann Rheum Dis* 2024; **83**(1): 15-29.
30. Kumar BV, Connors TJ, Farber DL. Human T Cell Development, Localization, and Function throughout Life. *Immunity* 2018; **48**(2): 202-13.
31. Bommhardt U, Beyer M, Hunig T, Reichardt HM. Molecular and cellular mechanisms of T cell development. *Cell Mol Life Sci* 2004; **61**(3): 263-80.
32. Wu DY, Pollock JD, Shurtleff D. Seminars in Cell & Developmental Biology. The molecular and cellular mechanisms in the development of addiction. Editorial. *Semin Cell Dev Biol* 2009; **20**(4): 377.
33. Germain RN. T-cell development and the CD4-CD8 lineage decision. *Nat Rev Immunol* 2002; **2**(5): 309-22.
34. Afzali B, Lombardi G, Lechler RI, Lord GM. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clin Exp Immunol* 2007; **148**(1): 32-46.
35. Constant SL, Bottomly K. Induction of Th1 and Th2 CD4+ T cell responses: the alternative approaches. *Annu Rev Immunol* 1997; **15**: 297-322.
36. Leng RX, Pan HF, Ye DQ, Xu Y. Potential roles of IL-9 in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Am J Clin Exp Immunol* 2012; **1**(1): 28-32.
37. Dong C. TH17 cells in development: an updated view of their molecular identity and genetic programming. *Nat Rev Immunol* 2008; **8**(5): 337-48.
38. Jia L, Wu C. The biology and functions of Th22 cells. *Adv Exp Med Biol* 2014; **841**: 209-30.
39. Azizi G, Yazdani R, Mirshafiey A. Th22 cells in autoimmunity: a review of current knowledge. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2015; **47**(4): 108-17.
40. Crotty S. T follicular helper cell differentiation, function, and roles in disease. *Immunity* 2014; **41**(4): 529-42.
41. Dieckmann D, Bruett CH, Ploettner H, Lutz MB, Schuler G. Human CD4(+)CD25(+) regulatory, contact-dependent T cells induce interleukin 10-producing, contact-independent type 1-like regulatory T cells [corrected]. *J Exp Med* 2002; **196**(2): 247-53.
42. Zhong W, Jiang Y, Ma H, Wu J, Jiang Z, Zhao L. Elevated levels of CCR6(+) T helper 22 cells correlate with skin and renal impairment in systemic lupus erythematosus. *Sci Rep* 2017; **7**(1): 12962.
43. Meitei HT, Jadhav N, Lal G. CCR6-CCL20 axis as a therapeutic target for autoimmune diseases. *Autoimmun Rev* 2021; **20**(7): 102846.
44. Swain SL, McKinstry KK, Strutt TM. Expanding roles for CD4(+) T cells in immunity to viruses. *Nat Rev Immunol* 2012; **12**(2): 136-48.
45. Seth A, Craft J. Spatial and functional heterogeneity of follicular helper T cells in autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2019; **61**: 1-9.
46. Desai-Mehta A, Lu L, Ramsey-Goldman R, Datta SK. Hyperexpression of CD40 ligand by B and T cells in human lupus and its role in pathogenic autoantibody production. *J Clin Invest* 1996; **97**(9): 2063-73.

47. Apostolidis SA, Lieberman LA, Kis-Toth K, Crispin JC, Tsokos GC. The dysregulation of cytokine networks in systemic lupus erythematosus. *J Interferon Cytokine Res* 2011; **31**(10): 769-79.
48. Harada T, Kyttaris V, Li Y, Juang YT, Wang Y, Tsokos GC. Increased expression of STAT3 in SLE T cells contributes to enhanced chemokine-mediated cell migration. *Autoimmunity* 2007; **40**(1): 1-8.
49. Chen PM, Tsokos GC. T Cell Abnormalities in the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus: an Update. *Curr Rheumatol Rep* 2021; **23**(2): 12.
50. Akahoshi M, Nakashima H, Tanaka Y, et al. Th1/Th2 balance of peripheral T helper cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999; **42**(8): 1644-8.
51. Enghard P, Humrich JY, Rudolph B, et al. CXCR3+CD4+ T cells are enriched in inflamed kidneys and urine and provide a new biomarker for acute nephritis flares in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Rheum* 2009; **60**(1): 199-206.
52. Lee SK, Silva DG, Martin JL, et al. Interferon-gamma excess leads to pathogenic accumulation of follicular helper T cells and germinal centers. *Immunity* 2012; **37**(5): 880-92.
53. Zhang X, Lindwall E, Gauthier C, et al. Circulating CXCR5+CD4+ helper T cells in systemic lupus erythematosus patients share phenotypic properties with germinal center follicular helper T cells and promote antibody production. *Lupus* 2015; **24**(9): 909-17.
54. Shah K, Lee WW, Lee SH, et al. Dysregulated balance of Th17 and Th1 cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2010; **12**(2): R53.
55. Wong CK, Ho CY, Li EK, Lam CW. Elevation of proinflammatory cytokine (IL-18, IL-17, IL-12) and Th2 cytokine (IL-4) concentrations in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2000; **9**(8): 589-93.
56. Blumer JB, Chandler LJ, Lanier SM. Expression analysis and subcellular distribution of the two G-protein regulators AGS3 and LGN indicate distinct functionality. Localization of LGN to the midbody during cytokinesis. *J Biol Chem* 2002; **277**(18): 15897-903.
57. Meyer A, Yan S, Golumba-Nagy V, et al. Kinase activity profiling reveals contribution of G-protein signaling modulator 2 deficiency to impaired regulatory T cell migration in rheumatoid arthritis. *J Autoimmun* 2021; **124**: 102726.
58. Mochizuki N, Cho G, Wen B, Insel PA. Identification and cDNA cloning of a novel human mosaic protein, LGN, based on interaction with G alpha i2. *Gene* 1996; **181**(1-2): 39-43.
59. Du Q, Macara IG. Mammalian Pins is a conformational switch that links NuMA to heterotrimeric G proteins. *Cell* 2004; **119**(4): 503-16.
60. McCudden CR, Willard FS, Kimple RJ, et al. G alpha selectivity and inhibitor function of the multiple GoLoco motif protein GPSM2/LGN. *Biochim Biophys Acta* 2005; **1745**(2): 254-64.
61. Blatch GL, Lassel M. The tetratricopeptide repeat: a structural motif mediating protein-protein interactions. *Bioessays* 1999; **21**(11): 932-9.
62. Siderovski DP, Diverse-Pierluissi M, De Vries L. The GoLoco motif: a Galphai/o binding motif and potential guanine-nucleotide exchange factor. *Trends Biochem Sci* 1999; **24**(9): 340-1.
63. He XQ, Zhang YF, Yu JJ, et al. High expression of G-protein signaling modulator 2 in hepatocellular carcinoma facilitates tumor growth and metastasis by activating the PI3K/AKT signaling pathway. *Tumour Biol* 2017; **39**(3): 1010428317695971.
64. Gloerich M, Bianchini JM, Siemers KA, Cohen DJ, Nelson WJ. Cell division orientation is coupled to cell-cell adhesion by the E-cadherin/LGN complex. *Nat Commun* 2017; **8**: 13996.
65. Bhonker Y, Abu-Rayyan A, Ushakov K, et al. The GPSM2/LGN GoLoco motifs are essential for hearing. *Mamm Genome* 2016; **27**(1-2): 29-46.
66. Fukukawa C, Ueda K, Nishidate T, Katagiri T, Nakamura Y. Critical roles of LGN/GPSM2 phosphorylation by PBK/TOPK in cell division of breast cancer cells. *Genes Chromosomes Cancer* 2010; **49**(10): 861-72.
67. Doherty D, Chudley AE, Coghlan G, et al. GPSM2 mutations cause the brain malformations and hearing loss in Chudley-McCullough syndrome. *Am J Hum Genet* 2012; **90**(6): 1088-93.
68. Yariz KO, Walsh T, Akay H, et al. A truncating mutation in GPSM2 is associated with recessive non-syndromic hearing loss. *Clin Genet* 2012; **81**(3): 289-93.

69. Walsh T, Shahin H, Elkan-Miller T, et al. Whole exome sequencing and homozygosity mapping identify mutation in the cell polarity protein GPSM2 as the cause of nonsyndromic hearing loss DFNB82. *Am J Hum Genet* 2010; **87**(1): 90-4.
70. Dang SC, Qian XB, Jin W, Cui L, Chen JX, Gu M. G-protein-signaling modulator 2 expression and role in a CD133(+) pancreatic cancer stem cell subset. *Onco Targets Ther* 2019; **12**: 785-94.
71. Deng M, Liu B, Zhang Z, et al. Knockdown of G-protein-signaling modulator 2 promotes metastasis of non-small-cell lung cancer by inducing the expression of Snail. *Cancer Sci* 2020; **111**(9): 3210-21.
72. Kimple RJ, De Vries L, Tronchere H, et al. RGS12 and RGS14 GoLoco motifs are G alpha(i) interaction sites with guanine nucleotide dissociation inhibitor Activity. *J Biol Chem* 2001; **276**(31): 29275-81.
73. Kimple RJ, Willard FS, Siderovski DP. The GoLoco motif: heralding a new tango between G protein signaling and cell division. *Mol Interv* 2002; **2**(2): 88-100.
74. Khafizov K. GoLoco motif proteins binding to Galpha(i1): insights from molecular simulations. *J Mol Model* 2009; **15**(12): 1491-9.
75. Kimple RJ, Kimple ME, Betts L, Sondek J, Siderovski DP. Structural determinants for GoLoco-induced inhibition of nucleotide release by Galpha subunits. *Nature* 2002; **416**(6883): 878-81.
76. Stastna M, Van Eyk JE. Analysis of protein isoforms: can we do it better? *Proteomics* 2012; **12**(19-20): 2937-48.
77. Srebrow A, Kornblihtt AR. The connection between splicing and cancer. *J Cell Sci* 2006; **119**(Pt 13): 2635-41.
78. Youinou P, Pers JO. The late news on baff in autoimmune diseases. *Autoimmun Rev* 2010; **9**(12): 804-6.
79. Yang D, Ji F, Li Y, Jiao Y, Fang X. GPSM2 Serves as an Independent Prognostic Biomarker for Liver Cancer Survival. *Technol Cancer Res Treat* 2020; **19**: 1533033820945817.
80. Zhang Z, Li Z, Deng M, et al. Downregulation of GPSM2 is associated with primary resistance to paclitaxel in breast cancer. *Oncol Rep* 2020; **43**(3): 965-74.
81. Deng M, Zhang Z, Liu B, et al. Localization of GPSM2 in the Nucleus of Invasive Breast Cancer Cells Indicates a Poor Prognosis. *Front Oncol* 2020; **10**: 227.
82. Manore SG, Doheny DL, Wong GL, Lo HW. IL-6/JAK/STAT3 Signaling in Breast Cancer Metastasis: Biology and Treatment. *Front Oncol* 2022; **12**: 866014.
83. Yan S, Golumba-Nagy V, Kotschenreuther K, et al. Membrane-bound IL-6R is upregulated on Th17 cells and inhibits Treg cell migration by regulating post-translational modification of VASP in autoimmune arthritis. *Cell Mol Life Sci* 2021; **79**(1): 3.
84. Bernatsky S, Ramsey-Goldman R, Labrecque J, et al. Cancer risk in systemic lupus: an updated international multi-centre cohort study. *J Autoimmun* 2013; **42**: 130-5.
85. Gayed M, Bernatsky S, Ramsey-Goldman R, Clarke A, Gordon C. Lupus and cancer. *Lupus* 2009; **18**(6): 479-85.
86. Hu LM, Ou XH, Shi SY. A comprehensive analysis of G-protein-signaling modulator 2 as a prognostic and diagnostic marker for pan-cancer. *Front Genet* 2022; **13**: 984714.
87. Iacobas D, Wen J, Iacobas S, Schwartz N, Putterman C. Remodeling of Neurotransmission, Chemokine, and PI3K-AKT Signaling Genomic Fabrics in Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus. *Genes (Basel)* 2021; **12**(2).
88. Warner LM, Adams LM, Sehgal SN. Rapamycin prolongs survival and arrests pathophysiologic changes in murine systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1994; **37**(2): 289-97.
89. Fernandez D, Bonilla E, Mirza N, Niland B, Perl A. Rapamycin reduces disease activity and normalizes T cell activation-induced calcium fluxing in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006; **54**(9): 2983-8.
90. Dong Y, Gao L, Sun Q, Jia L, Liu D. Increased levels of IL-17 and autoantibodies following Bisphenol A exposure were associated with activation of PI3K/AKT/mTOR pathway and abnormal autophagy in MRL/lpr mice. *Ecotoxicol Environ Saf* 2023; **255**: 114788.
91. Andrikopoulou A, Chatzinikolaou S, Panourgias E, et al. "The emerging role of capivasertib in breast cancer". *Breast* 2022; **63**: 157-67.

92. Perl A. mTOR activation is a biomarker and a central pathway to autoimmune disorders, cancer, obesity, and aging. *Ann N Y Acad Sci* 2015; **1346**(1): 33-44.
93. Linker-Israeli M, Deans RJ, Wallace DJ, Prehn J, Ozeri-Chen T, Klinenberg JR. Elevated levels of endogenous IL-6 in systemic lupus erythematosus. A putative role in pathogenesis. *J Immunol* 1991; **147**(1): 117-23.
94. Grondal G, Gunnarsson I, Ronnelid J, Rogberg S, Klareskog L, Lundberg I. Cytokine production, serum levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol* 2000; **18**(5): 565-70.
95. Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nat Immunol* 2015; **16**(5): 448-57.
96. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2014; **6**(10): a016295.
97. Chalaris A, Garbers C, Rabe B, Rose-John S, Scheller J. The soluble Interleukin 6 receptor: generation and role in inflammation and cancer. *Eur J Cell Biol* 2011; **90**(6-7): 484-94.
98. Myojin Y, Kodama T, Sakamori R, et al. Interleukin-6 Is a Circulating Prognostic Biomarker for Hepatocellular Carcinoma Patients Treated with Combined Immunotherapy. *Cancers (Basel)* 2022; **14**(4).
99. van Duijneveldt G, Griffin MDW, Putoczki TL. Emerging roles for the IL-6 family of cytokines in pancreatic cancer. *Clin Sci (Lond)* 2020; **134**(16): 2091-115.
100. Ma Y, Ren Y, Dai ZJ, Wu CJ, Ji YH, Xu J. IL-6, IL-8 and TNF-alpha levels correlate with disease stage in breast cancer patients. *Adv Clin Exp Med* 2017; **26**(3): 421-6.
101. Lee AY, Korner H. CC chemokine receptor 6 (CCR6) in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Immunol Cell Biol* 2020; **98**(10): 845-53.
102. Gu Y, Feng Q, Liu H, et al. Bioinformatic evidences and analysis of putative biomarkers in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Heliyon* 2019; **5**(8): e02378.
103. Wang Y, Ito S, Chino Y, et al. Laser microdissection-based analysis of cytokine balance in the kidneys of patients with lupus nephritis. *Clin Exp Immunol* 2010; **159**(1): 1-10.
104. Kshirsagar S, Riedl M, Billing H, et al. Akt-dependent enhanced migratory capacity of Th17 cells from children with lupus nephritis. *J Immunol* 2014; **193**(10): 4895-903.
105. Yuen E, Fried J, Nguyen SA, Rizk HG, Ward C, Meyer TA. Hearing loss in patients with systemic lupus erythematosus: A systematic review and meta-analysis. *Lupus* 2021; **30**(6): 937-45.

## 6. Anhang

### 6.1. Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1: EULAR/ACR Klassifizierungskriterien SLE 2019<sup>24</sup></b> .....	12
<b>Abbildung 2: SLICC Klassifikationskriterien SLE 2012<sup>2</sup></b> .....	13
<b>Abbildung 3: Thymozyten Entwicklungsmodell</b> .....	15
<b>Abbildung 4: Differenzierung von naiven CD4<sup>+</sup> Zellen in Effektorzellen und T<sub>reg</sub>-Zellen in Abhängigkeit vom Zytokinmilieu</b> .....	17
<b>Abbildung 5: Aufbau von GPSM2</b> .....	18
<b>Abbildung 6: GPSM2 Isoformen</b> .....	19
<b>Abbildung 7: Kinomprofil verschiedener Kinasen bei gesunden Kontrollen (HC), RA, RA unbehandelt (ut), Ankylosierende Spondylitis (AS), Psoriasis-Arthritis (PsA) und SLE. Das Kinomprofil zeigt eine ausgeprägte Kinaseaktivität/Phosphorylierungsniveau bei HC, RA, RA ut, AS, PsA und SLE. Die Behandlung mit IL-6-Rezeptor-Inhibitoren (IL-6-R-I) hebt die veränderte Kinaseaktivität bei RA auf. GPSM2 ist im schwarzen Kasten hervorgehoben<sup>57</sup>.</b> ..	20
<b>Abbildung 8: Gegenüberstellung des Standard-GDP-GTP-Zyklusmodells mit dem Einfluss von GoLoco-Motiven auf diesen</b> .....	21