

Z Rheumatol 2008 · 67:59–61  
 DOI 10.1007/s00393-008-0261-1  
 Online publiziert: 24. Januar 2008  
 © Springer Medizin Verlag 2008

**Redaktion**

A. Radbruch, Berlin  
 H. Schulze-Koops, München

W.K. Aicher<sup>1</sup> · T. Pap<sup>2</sup> · S. Gay<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Zentrum für Medizinische Forschung, Orthopädische Universitätsklinik, Eberhard-Karls-Universität Tübingen

<sup>2</sup> Abteilung für Molekulare Medizin, Orthopädische Universitätsklinik Münster

<sup>3</sup> WHO Zentrum für Experimentelle Rheumatologie, Universitätsspital Zürich, Center for Integrative Human Physiology (ZIHP)

# Laminin-modulierte Entzündungsreaktionen in synovialen Fibroblasten von Rheumapatienten

Charakteristisch für die rheumatoide Arthritis sind neben den systemischen Veränderungen, welche für die klinische Diagnose eine große Bedeutung haben (u. a. CRP, Rheumafaktor usw.), vor allem Veränderungen der betroffenen Gelenke:

- Synovitis,
- Knorpeldestruktion und
- Erosionen des gelenknahen Knochens.

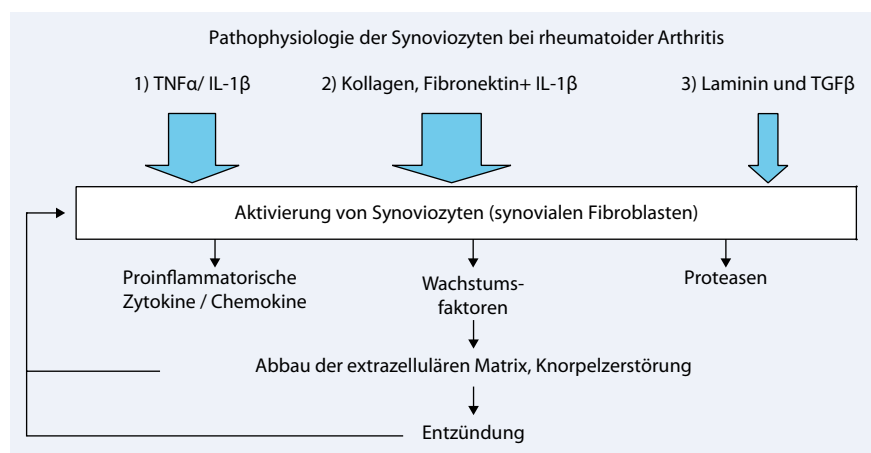
Klinische und experimentelle Beobachtungen legen nahe, dass verschiedene Zellen und deren Produkte im Gelenk an der Pathologie der Synovitis beteiligt sind [1]. Zu den infiltrierenden Zellen zählen vor allem die T-Lymphozyten und Monozyten. Darüber hinaus wurden *in situ* klonal proliferierende B-Zellen im rheumatoiden Synovium nachgewiesen, was eine klare Evidenz für einen (Auto-) Antigenstimulierten Prozess darstellt. Ebenso werden die Entzündungsvorgänge im Verlauf der Arthritis durch Veränderungen des Endothels begünstigt. Es sind aber auch die ortsständigen Synoviozyten aktiviert, welche entweder den Monozyten/Makrophagen (Typ A) oder den Fibroblasten (Typ B) ähnlich sind.

Im Verlauf der Arthritis kommt es zu deutlichen Verschiebungen der Genexpressionsmuster der Synoviozyten hin zu erhöhter Produktion von proinflammatorischen Zytokinen, Wachstumsfaktoren

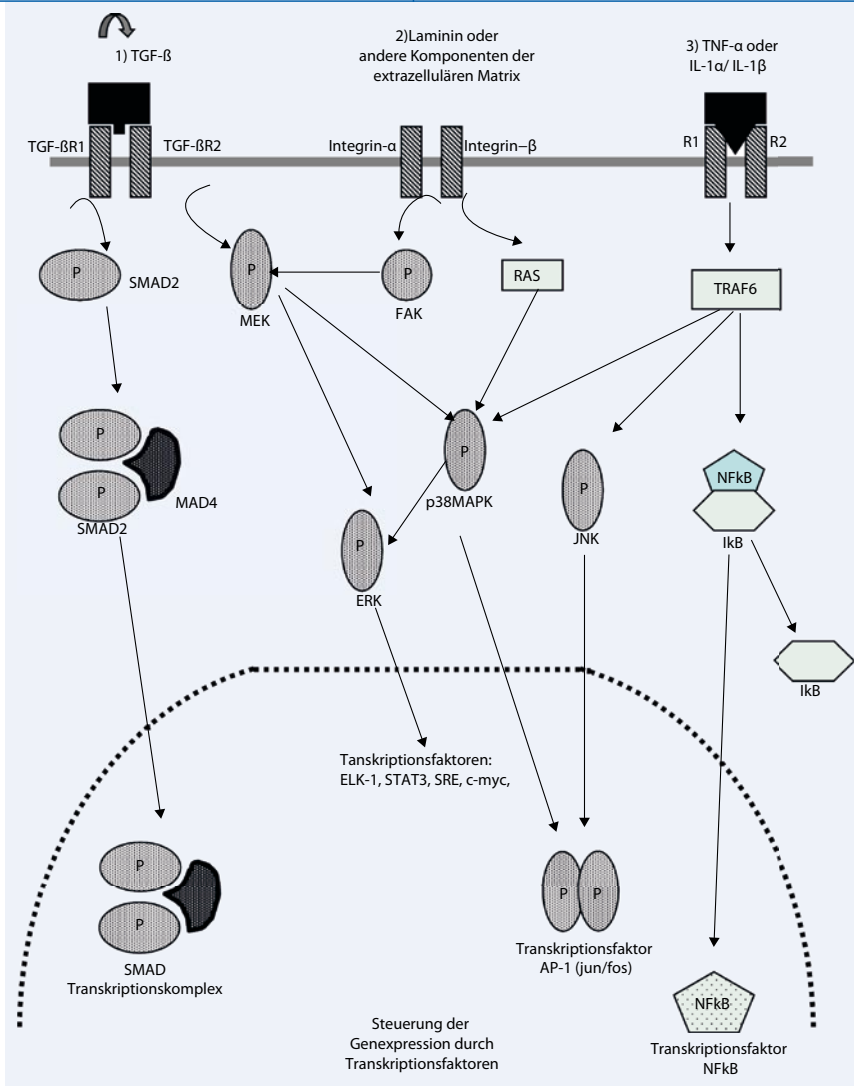
und Chemokinen, begleitet von der Expression verschiedener Proteasen, welche die extrazelluläre Matrix des Gewebes degradieren und dadurch die synoviale Architektur, die gelenkschützende Knorpelschicht und auch die darunter liegenden Knochen aggressiv-invasiv abbauen ([2]; **Abb. 1**).

Wichtige Zytokine in diesem Zusammenhang sind Tumornekrosefaktor-(TNF-)α und Interleukin-(IL-)1β. Diese

Zytokine induzieren u. a. die Expression von entzündungsfördernden Faktoren in Synoviozyten und regen deren Proliferation an (**Abb. 1**). TNF-α erhöht des Weiteren die Resistenz synovialer Fibroblasten gegen Apoptose-auslösende Stimuli oder Seneszenz-assoziierte Prozesse. IL-1β und TNF-α nutzen intrazellulär NF-κB als sekundären Botenstoff (**Abb. 2**). Diesem Botenstoff wird daher eine sehr wichtige Rolle in der Pa-



**Abb. 1** ▲ TGF-β und Laminin (extrazelluläre Matrix) propagieren die Entzündung in Synoviozyten des rheumatischen Gelenks unabhängig von TNF-α und IL-1β. 1) Die zentralen proinflammatorischen Zytokine TNF-α und IL-1β induzieren die Expression von entzündungsfördernden Faktoren in Synoviozyten. 2) Die Komponenten der extrazellulären Matrix Fibronectin und Kollagen induzieren in Anwesenheit von IL-1β die Expression von Proteasen, die extrazelluläre Matrixproteine abbauen. 3) Laminin und TGF-β induzieren die Expression von Proteasen. Die beim Abbau der extrazellulären Matrix entstehenden Peptide aktivieren Synoviozyten zu erhöhter Expression von Entzündungsfaktoren



**Abb. 2** Vereinfachte Darstellung der Signalübertragung, die durch Zytokine und Matrixkomponenten in synovialen Fibroblasten ausgelöst wird. 1) Die Bindung von TGF-β an seinen Rezeptor aktiviert Signalwege, welche SMAD2 und die Mitogen-aktivierten Proteinkinasen (MAP-Kinasen) MEK, ERK und p38 einschließen. 2) Die Bindung der Zellen an Komponenten der extrazellulären Matrix wie z. B. Laminin mittels Integrinrezeptoren aktiviert die MAP-Kinasen MEK, ERK und p38. Die gleichzeitige Stimulation der Zellen durch TGF-β kann die MAP-Kinase-Signale verstärken oder deren Aktivität verlängern [6, 7]. 3) Proinflammatorische Zytokine wie IL-1β oder TNF-α nutzen das TRAF6-Protein als gemeinsames Relais, um einerseits über die MAP-Kinasen p38 und JNK Transkriptionsfaktoren wie STAT3 oder SRE, vor allem aber das AP-1-Dimer zu aktivieren. Zudem wird durch TRAF6 die Bindung zwischen I-κB und NF-κB gelöst. So gelangt der Transkriptionsfaktor NF-κB in den Kern und reguliert seine Zielgene

thologie der rheumatoiden Arthritis beigemessen. Gleichzeitig aktiviert NF-κB auch die Expression von IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α. So unterhält NF-κB einen *circulus vitiosus* im rheumatischen Gelenk [3]. Es gibt aber immer wieder Rheumapatienten, die trotz weitgehender Neutralisierung des TNF-α (oder trotz relativ niedriger IL-1β-Spiegel im Blut) eine radiologische Progression der Knorpeldestruktion zeigen. Wie kann das erklärt werden?

### Die synovialen Fibroblasten als Module der Gelenkdestruktion

Die Aktivierung von synovialen Fibroblasten durch Zytokine ist vielfach untersucht und beschrieben worden [4]. Sie führt zur Expression von entzündungsfördernden Zytokinen und Enzymen, welche die extrazelluläre Matrix abbauen. Einmal aktiviert, benötigen die synovialen Fibroblasten keine weitere Stimulation, um z. B.

Knorpel zu degradieren [4]. Die Aktivierung von Fibroblasten durch Bindung an Komponenten der extrazellulären Matrix ist im Detail noch nicht genau untersucht. Es konnte aber gezeigt werden, dass Zellen durch Kollagen- und Fibronectinfragmente zu erhöhter Expression von Matrixproteasen angeregt werden können (Abb. 1). Die Aktivierung dieser Prozesse erfordert meist IL-1β als Kostimulus (zusammengefasst in [5]).

### Laminin-induzierte Aktivierung der synovialen Fibroblasten

Jüngste Arbeiten zeigen, dass synoviale Fibroblasten auch ohne IL-1β oder TNF-α in der Lage sind, erhöhte Mengen an Matrixabbauenden Proteasen zu exprimieren. Im Verlauf der rheumatoiden Arthritis findet man eine erhöhte Expression von Laminin in der Synovialmembran. Die Bindung der synovialen Fibroblasten an Laminin bewirkt eine Aktivierung der Zellen dergestalt, dass sie nach Zugabe von TGF-β mit einer signifikanten Expression der Metalloproteinasen Stromelysin, MMP-3 und MMP-10 reagieren [6, 7]. Andere MMPs und die spezifischen Proteasehemmer (TIMP) werden nicht oder deutlich schwächer induziert [7].

Der Aktivierung der Expression von MMP-3 (Stromelysin-1) kommt insofern eine besondere Bedeutung zu, als MMP-3, im Gegensatz z. B. zu MMP-1 (interstitielle Kollagenase), eine deutlich breitere Substratspezifität besitzt. MMP-1 degradiert bevorzugt die tripelhelikalen Domänen der Kollagenfasern. Das Aminosäuremotiv L-R-A-Y:L-L-P-A ist eine der wenigen bestätigten Schnittstellen, welche von MMP-1 in anderen Proteinen als Kollagen benutzt wird. MMP-3 dagegen degradiert verschiedene (Glyko-)Proteine, Proteindomänen und Aminosäuremotive, spielt also eine entscheidende Rolle beim Abbau der extrazellulären Matrix im synovialen Gewebe, in Knorpel und Knochen. Der Abbau von extrazellulären Matrixproteinen setzt seinerseits Peptide frei, von denen bekannt ist, dass sie ihrerseits Synoviozyten zu erhöhter Expression von Entzündungsfaktoren aktivieren können (Abb. 1).

In den Zellkulturüberständen von mit TGF-β plus Laminin aktivierten Fi-

broblasten war die Menge an IL-1 $\beta$  (Boten-RNA/mRNA, Protein) nicht erhöht und TNF- $\alpha$  nicht nachweisbar. Untersuchungen der durch TGF- $\beta$  plus Laminin aktivierten Signalübertragungswege ergaben neben der Phosphorylierung von Mitogen-aktivierten-Protein- (MAP-)Kinasen und SMAD2 keine Hinweise auf eine Beteiligung von NF- $\kappa$ B an dieser Induktion von MMP-3 und MMP-10 (Abb. 2). Die Bestimmung der Menge an TGF- $\beta$ -mRNA nach Aktivierung der Fibroblasten ergab jedoch, dass TGF- $\beta$  seine eigene Expression aktiviert, sodass hier ein System der Selbstaktivierung induziert wird.

Möglicherweise sind diese TGF- $\beta$  plus Matrix-induzierten Prozesse an einer Ausbreitung der Entzündung im rheumatoiden Gelenk beteiligt, auch wenn die zentralen proinflammatorischen Zytokine, allen voran TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  pharmakologisch oder durch Biologika in ihrer Wirkung gehemmt werden [8]. Wir gehen davon aus, dass auch andere an der Pathologie der Arthritis beteiligte Faktoren, wie Chemokine oder Interleukine, durch den hier beschriebenen Weg der Aktivierung reguliert werden können.

## Fazit für die Praxis

Die Aktivierung von synovialen Fibroblasten durch Laminin und TGF- $\beta$  induziert die erhöhte Expression von MMP-3 und MMP-10. Diese Expression von MMP-3 und MMP-10 benötigt keine Kostimulation durch IL-1 $\beta$  oder TNF- $\alpha$  und schließt Signalübertragung durch NF- $\kappa$ B aus. Da TGF- $\beta$  seine eigene Expression in synovialen Fibroblasten induziert und die durch Laminin plus TGF- $\beta$  induzierte Expression von Proteasen zur Freisetzung von inflammatorischen Peptiden führt, kann durch diese beiden Signale ein kataboler *circulus vitiosus* entstehen, der zwar „auf deutlich kleinerer Flamme kocht“, als die durch TNF- $\alpha$  oder IL-1 $\beta$  induzierten Entzündungsvorgänge, aber möglicherweise an der chronischen Gelenkdestruktion beteiligt ist, auch wenn TNF- $\alpha$  (und/oder IL-1 $\beta$ ) pharmakologisch abgefangen wird.

## Korrespondenzadresse

**Prof. Dr. W.K. Aicher**  
Zentrum für Medizinische Forschung,  
Orthopädische Universitätsklinik,  
Eberhard-Karls-Universität Tübingen  
Hoppe-Seyler-Straße 3, 72076 Tübingen  
aicher@uni-tuebingen.de

**Interessenkonflikt.** Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

## Literatur

1. Gay S, Gay RE, Koopman WJ (1993) Molecular and cellular mechanisms of joint destruction in rheumatoid arthritis: two cellular mechanisms explain joint destruction. *Ann Rheum Dis* 52: S39–S47
2. Burrage PS, Mix KS, Brinckerhoff CE (2006) Matrix metalloproteinases: role in arthritis. *Front Biosci* 11: 529–543
3. Firestein SG (2004) NF $\kappa$ B: Holy grail for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 50: 2381–2386
4. Pap T, Müller-Ladner U, Gay RE, Gay S (2000) Fibroblast biology: role of synovial fibroblasts in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2: 361–367
5. Pap T (2003) New insights into integrin signalling: implications for rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthr Rheum Ther* 5: 154–155
6. Hoberg M, Rudert M, Pap T et al. (2007) Attachment to laminin-1 facilitates TGF- $\beta$  induced expression of MMP-3 in synovial fibroblasts. *Ann Rheum Dis* 66: 446–451
7. Warstat K, Pap T, Klein G et al. (2008) Co-activation of synovial fibroblasts by laminin-1 and TGF- $\beta$  induced MMP-3 and MMP-10 independently of NF- $\kappa$ B activation. *Ann Rheum Dis* 66: [E-pub online]
8. Drynda S, Kuhne C, Kekow J (2002) Soluble tumour necrosis factor receptor treatment does not affect raised transforming growth factor beta levels in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 61: 254–256

## Zusammenfassung · Abstract

Z Rheumatol 2008 · 67:59–61  
DOI 10.1007/s00393-008-0261-1  
© Springer Medizin Verlag 2008

**W.K. Aicher · T. Pap · S. Gay**  
**Laminin-modulierte**  
**Entzündungsreaktionen**  
**in synovialen Fibroblasten**  
**von Rheumapatienten**

### Zusammenfassung

Die hohe Expression von Matrix-Metalloproteinasen (MMP) ist bei rheumatoider Arthritis an der Knorpeldestruktion beteiligt. Wir zeigen einen neuen Weg der entzündlichen Aktivierung von synovialen Fibroblasten, der durch TGF- („transforming growth factor-“)  $\beta$  und Laminin (extrazelluläre Matrix) induziert zu erhöhter Expression der Proteasen MMP-3 und MMP-10 führt und weder Kostimulation durch die zentralen entzündungsfördernden Zytokine IL- (Interleukin-) 1 $\beta$  oder TNF- (Tumornekrosefaktor-)  $\alpha$  benötigt, noch Signalübertragung durch NF- $\kappa$ B nutzt.

### Schlüsselwörter

Synoviale Fibroblasten · TGF- $\beta$  · MMP-3 · MMP-10 · Laminin

### Laminin-dependent inflammatory response in synovial fibroblasts of rheumatoid arthritis patients

### Abstract

Elevated expression of matrix-metalloproteinases (MMP) contributes to cartilage destruction in rheumatoid arthritis. We report on a novel pathway of inflammatory activation of synovial fibroblasts that is induced by TGF- $\beta$  and laminin (extracellular matrix) and leads to increased expression of the proteases MMP-3 and MMP-10. Neither costimulation by the central inflammatory cytokines TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  nor NF $\kappa$ B signalling is needed for this pathway.

### Keywords

Synovial fibroblasts · TGF- $\beta$  · MMP-3 · MMP-10 · Laminin