

# Anhang zu: Bruton-Tyrosinkinase-Inhibitoren bei der Multiplen Sklerose

Julia Krämer und Heinz Wiendl, Münster

(Psychopharmakotherapie 2023;30:146–63.)

## Die Rolle der BTK in der Signalübertragung von Immunzellen

### BTK- und B-Zell-Signaltransduktion

Der BCR besteht aus einem membrangebundenen Ig-Molekül mit zwei schweren Ketten, zwei leichten Ketten und einem Heterodimer namens Ig  $\alpha/\beta$  (oder alternativ CD79a/b). Sowohl Ig  $\alpha$  als auch Ig  $\beta$  haben einen zytoplasmatischen Schwanz, der Immunrezeptor-Tyrosin-basierte Aktivierungsmotive (ITAM) enthält; diese ITAMs sind für die intrazelluläre Signaltransduktion des BCR erforderlich. Die Antigenbindung an den BCR führt zur Phosphorylierung (normalerweise durch die Tyrosinkinase LYN) von Tyrosinresten, die sich auf den ITAMs des BCR [174] und dem intrazellulären Schwanz des BCR-Co-Rezeptors CD19 befinden [62]. Diese Phosphorylierungen führen zur Schaffung von Andockstellen für die Milz-Tyrosinkinase (SYK) [64, 168] bzw. zur Rekrutierung von Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K) [86, 208]. Letzteres kann auch unabhängig von CD19 durch den B-Zell-Adapter für PI3K (BCAP) [148] aktiviert werden.

Obwohl sich die BTK normalerweise im Zytoplasma befindet, wird sie bei der Stimulation des BCR durch PIP<sub>3</sub> über die Interaktion mit der PH-Domäne von BTK zur Plasmamembran rekrutiert [166, 171]. Darüber hinaus aktiviert CD40 BTK über SYK, sowohl unabhängig als auch in Synergie mit dem BCR [84, 188, 211]. Nach vollständiger Aktivierung der BTK durch und mit SLP-65 als Linkerprotein phosphoryliert BTK die Phospholipase C gamma 2 (PLC $\gamma$ 2) [184], was wiederum die sekundären Botenstoffe Inositol-1,4,5-triphosphat (IP<sub>3</sub>) und Diacylglycerol (DAG) erzeugt (Abb. 1a) [121]. IP<sub>3</sub> mobilisiert über seinen Rezeptor (IP3R) den Calciumeinstrom aus intrazellulären Speichern [189], was den Calmodulin-Calciuein-Weg stimuliert und zur Aktivierung des Kernfaktors aktivierter T-Zellen (NFAT) führt [86, 166]. DAG aktiviert zusammen mit dem Calciumeinstrom die Proteinkinase C- $\beta$  (PKC- $\beta$ ) [121]. Dieses Enzym interagiert mit einem Komplex, der mehrere Signalfaktoren umfasst, darunter den Tumornekrosefaktor-Rezeptor-assoziierten Faktor 6 (TRAF6), um den I-kappa-B-(I $\kappa$ B)-Kinase-Komplex (IKK) zu aktivieren. Dies führt zum Abbau von I kappa B (I $\kappa$ B) und ermöglicht es NF- $\kappa$ B, in den Zellkern einzudringen (Abb. 1a) [45, 119, 166,

175]. Die NFAT- und NF- $\kappa$ B-Transkriptionsfaktoren steuern die Expression mehrerer Gene, die für das Überleben, die Proliferation, die Toleranz, den Ig-Klassenwechsel sowie die Chemokin- und Zytokin-Expression von B-Zellen wesentlich sind [12, 17, 20, 69, 136, 155].

Zusätzlich zur Aktivierung des NF- $\kappa$ B-Signalwegs stimulieren PKC- $\beta$  und DAG auch die Signalübertragung durch Mitogen-aktivierte Proteinkinasen, was zur Aktivierung und nuklearen Translokation von extrazellulären signalregulierten Proteinkinasen 1/2 (ERK1/2) führt (Abb. 1a) [190]. Wichtige Ziele von ERK1/2 sind die Transkriptionsfaktoren ELK1 und MYC, die am Überleben und der Proliferation von Prä-B-Zellen beteiligt sind [210].

Die BTK ist auch für die Aktivierung des Zytoskeletumbaus essenziell, der nach der BCR-Aktivierung erfolgt [53, 150, 207]. An diesem Prozess sind VAV-Proteine beteiligt, die durch CD19 aktiviert und über das SLP-65-Gerüstprotein mit BTK verknüpft sind (Abb. 1a) [35].

Die BTK-Aktivierung kann durch die in der SH2-Domäne enthaltene Inositolpolyphosphat-5'phosphatase-1 (SHIP1) negativ reguliert werden. Die SHIP1 wird an die Immuntirosin-Hemmotive (ITIM) auf dem B-Zell-Fc $\gamma$ RIIB-Hemmrezeptor rekrutiert. In einem Prozess, der eine LYN-vermittelte Phosphorylierung der ITIMs beinhaltet, hydrolysiert SHIP1 PIP<sub>3</sub>, was zur Freisetzung der BTK aus der Membran führt [142, 145].

Über die BCR-Transduktion hinaus ist die BTK für die Signalübertragung von Toll-like-Rezeptoren (TLR) in B-Zellen von wesentlicher Bedeutung. Es wurde gezeigt, dass die BTK mit einer wichtigen Signaldomäne des TLR-Systems, der Toll/IL-1-Rezeptor(TIR)-Domäne [71, 94, 114], sowie mit Adapterproteinen interagiert, die den TLR an nachgeschaltete Proteinkinasen koppeln [24, 149]. Beispielsweise interagiert BTK mit dem Myeloid-Differenzierungsfaktor-88-Adapterprotein (MyD88) [94], um die TRAF6-abhängige Aktivierung von NF- $\kappa$ B und die Zytokinproduktion über die Rekrutierung von IL-1-Rezeptor-assoziierten Kinasen (IRAKs) auszulösen [141, 166]. Da TRAF6 auch vom BCR rekrutiert wird, um NF- $\kappa$ B zu aktivieren [45], wurde angenommen, dass dies einen Schlüsselmechanismus darstellt, durch den die BTK zu synergistischen

B-Zell-Reaktionen auf die duale TLR- und BCR-Stimulation beiträgt [101, 165, 166].

### **BTK und die Signaltransduktion in Zellen des angeborenen Immunsystems**

Die BTK spielt auch eine Schlüsselrolle bei der Signaltransduktion in Zellen des angeborenen Immunsystems. Die BTK ist an der Fc $\epsilon$ R-vermittelten Signaltransduktion in Mastzellen und Basophilen beteiligt [56, 78, 100]. Die Antigenbindung an IgE-Moleküle, die mit dem Fc $\epsilon$ R assoziiert sind, induziert die Phosphorylierung von ITAMs in den Fc $\epsilon$ R- $\beta$ - und - $\gamma$ -Ketten [56]. Ähnlich wie bei der BCR-Transduktion rekrutiert und aktiviert die Phosphorylierung von Fc $\epsilon$ R-ITAMs LYN und SYK in der Folge [63, 177]. Diese Kinasen phosphorylieren dann mehrere Tyrosinreste im Linker zur Aktivierung von T-Zellen (LAT) und bilden einen Signalkomplex, der aus BTK und PLC  $\gamma$  (1 und 2) besteht [172]. BTK und SYK initiieren über die Phosphorylierung von PLC  $\gamma$  die Bildung der sekundären Botenstoffe IP<sub>3</sub> und DAG [70, 172]. Sowohl die IP<sub>3</sub>-induzierte Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung als auch die DAG-Aktivierung von Proteinkinase (PK)C-Isoformen führen zur Degranulation und Aktivierung von Transkriptionsfaktoren (z. B. Mitglieder der NFAT-Familie und Aktivator-Protein-1-Komplex), die die Zytokinexpression steuern [56, 70].

Im Gegensatz zu dem umfassenden Verständnis der BTK bei der BCR-Signalübertragung in B-Zellen ist vergleichsweise wenig über die Funktion der BTK in einzelnen myeloischen Zellpopulationen bekannt [166]. Bisherige Erkenntnisse deuten darauf hin, dass die BTK über die FcR-Signaltransduktion an der Aktivierung, Reifung, Migration, dem Überleben, der Phagozytose und der proinflammatorischen Zytokinproduktion myeloischer Zellen beteiligt ist (**Abb. 1b**).

Von den Zelloberflächen-FcRs, die von den angeborenen Immunzellen exprimiert werden und für verschiedene Ig-Isotypen spezifisch sind, ist bekannt, dass die Fc $\gamma$ Rs Signale über die BTK senden. Dies wurde in Experimenten mit Makrophagenkulturen gezeigt [96, 118, 152], in denen die BTK-Hemmung die durch Fc $\gamma$ R induzierte Phagozytose [96] und die Produktion von IL-1 $\beta$ , IL-6 und Tumornekrosefaktor (TNF)- $\alpha$  blockierte [48]. Die Rolle der BTK bei der durch den Fc $\gamma$ R-induzierten Zytokinproduktion wurde einem aktivierenden Fc $\gamma$ R-Subtyp, dem Fc $\gamma$ RIII, zugeschrieben [48]. Fc  $\gamma$  RIII enthält zwei ITAMs im intrazellulären Teil seiner Fc  $\gamma$  -Kette, die bei der IgG-Bindung phosphoryliert werden. Ähnlich wie beim oben beschriebenen BCR-Signalweg führt die Phosphorylierung von ITAMs der Fc $\gamma$ -Kette zu einer zellulären Aktivierung über die SYK, BTK und PI3K-vermittelte PIP<sub>3</sub>-Generierung (**Abb. 1b**) [102, 166].

Die Beteiligung der BTK an angeborenen Immunzellreaktionen wird auch über TLR-Signale vermittelt, einschließlich der TLR-Regulierung durch Klasse-II-Moleküle des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC). Die BTK interagiert mit MyD88 und TIR-Domäne-enthaltenden Interferon- $\beta$  induzierenden Adapterproteinen (TRIF) in angeborenen Immunzellen, um TLR-Signalwege zu erleichtern, die zur Aktivierung von NF- $\kappa$ B und zur Produktion von Interferon- $\beta$  führen [52, 89, 94, 114]. Es wurde gezeigt, dass die Interaktion von BTK mit der MyD88 und TRIF für die Verstärkung der TLR-Signalübertragung durch intrazelluläre MHC-Klasse-II-Moleküle in Makrophagen und dendritischen Zellen von wesentlicher Bedeutung ist [122].