

Varicula Biotech GmbH  
Willem-Kolff-Platz 1  
17166 Teterow

www.varicula.de  
info@varicula.de  
Telefon: 03996 159220  
0171 6049349



## **BK-RiV ein wirkungsvoller Modulator des Immunsystems**

BK-RiV kann die unterschiedlichsten Krankheitsbilder positiv beeinflussen, deshalb liegt die Vermutung nahe, dass BK-RiV als potenter Modulator des Immunsystems wirkt. Dabei scheint BK-RiV (möglicherweise aufgrund seiner biologischen Komplexität und seiner partikulären Struktur) eine umfassende Wirkung im Organismus zu entfalten. Wenn BK-RiV als Immunmodulator wirkt, dann sollten sich zelluläre und humorale Komponenten des Immunsystems unter einer BK-RiV-Behandlung in ihrer Konzentration und/oder ihrer Zusammensetzung verändern.

Tatsächlich konnte durch Untersuchungen, die im Institut für Anatomie der Universität zu Lübeck durchgeführt werden, eine eindeutige Beeinflussung zellulärer und humoraler Komponenten des Immunsystems durch BK-RiV quantitativ nachgewiesen werden. In zwei unterschiedlichen Tiermodellen traten nach BK-RiV-Behandlung vermehrt Zytokine auf, die eine TH2-Immunantwort (antiinflammatorischer Weg) favorisieren. Gleichzeitig wurde die Expression von TH1-Zytokinen (inflammatorischer Weg) teilweise verringert. Außerdem kam es zu einer signifikanten Veränderung in der IgG-Isotypen-Verteilung zugunsten der weniger aggressiven Isotypen und die Anzahl der Monozyten erhöhte sich im peripheren Blut signifikant<sup>1 2 3</sup>. Diese Veränderungen führten bei einer im Tiermodell induzierten Autoimmunerkrankung (*Epidermolysis Bullosa Aquisita*, EBA) zu einem deutlich verbesserten Krankheitsverlauf. Darüber hinaus konnte in Versuchen zur Wundheilung, die mit Hautbiopsien unter standardisierten Bedingungen durchgeführt wurden, eine eindeutige Verbesserung des Heilungsprozesses beobachtet werden<sup>3</sup>.

Neben diesen direkten Untersuchungen zu BK-RiV lassen sich auch Ergebnisse anderer Forschungsgruppen, die zu Einzelbestandteilen des BK-RiV publiziert wurden, als Grundlage für Hypothesen zum Wirkmechanismus nutzen. Ein bedeutsamer BK-RiV-Bestandteil sind Annexine. Annexin-V ist z.B. dafür bekannt, dass es sehr spezifisch und hoch affin mit dem Phospholipid Phosphatidylserin (PS) interagiert, das vermehrt in der äußeren Schicht der Zellmembran von Tumorzellen und virusinfizierten Zellen vorkommt<sup>4 5 6 7</sup>. Auch Galectin-3 ist in der Lage, selektiv bestimmte Strukturen zu erkennen, die es nur in der Nähe von Tumorzellen gibt<sup>8</sup>. Diese BK-RiV-Proteine könnten demnach für die Zielsteuerung von BK-RiV an die Zielzellen wichtig sein. Annexin-V kann sich dann möglicherweise in die Zellmembran einlagern und dort Ionenkanäle bilden<sup>9</sup>. Anschließend kommt es zum massiven Einstrom von Kalziumionen, wodurch in der betroffenen Zelle Apoptose (kontrollierter Zelltod) ausgelöst wird. Dass BK-RiV tatsächlich in der Lage ist, an PS-haltige Liposomen zu binden, konnte durch Arbeiten am Institut für Biologie der Universität zu Lübeck experimentell bestätigt werden<sup>10</sup>.

Darüber hinaus ist aus der Fachliteratur bekannt, dass extrazelluläres Annexin-V das Eindringen von Viren in Zellen erschwert (z.B. HIV, HBV)<sup>11</sup>.

Andere BK-RiV-Polypeptide (z.B. weitere Annexine, S100-Proteine, Peroxiredoxine) beeinflussen das Immunsystem direkt oder wirken allgemein entzündungshemmend. Das in die Gruppe der Peroxiredoxine gehörende Protein NKEF aktiviert z.B. nicht nur NK-Zellen, sondern inhibiert darüber hinaus auch die HIV-Vermehrung in infizierten T-Zellen<sup>12</sup>.

Einige RiV-Proteine werden zur Gruppe der DAMPs (*damage-associated molecular pattern*) gezählt. Hierzu gehören vor allem Peroxiredoxine, Calreticulin, S100-Proteine und HSPs<sup>13</sup>. In den letzten Jahren mehren sich die Hinweise, dass DAMPs gezielt das Immunsystem beeinflussen und z.B. die gegen Tumore gerichtete Immunantwort verstärken können<sup>14</sup>, wobei Calreticulin die Bindung von Tumorantigenen an der Oberfläche dendritischer Zellen vermittelt<sup>15</sup>.

Möglicherweise werden BK-RiV-Proteine auch von Tumorzellen aufgenommen bzw. interagieren mit membranständigen Rezeptoren an der Oberfläche der Zielzellen. Dadurch können im Zellinneren Signaltransduktionswege beeinflusst werden, die das Schicksal der Zielzelle drastisch beeinflussen. Zu den BK-RiV-Polypeptiden, die an Signaltransduktionen beteiligt sind, gehören u.a. 14-3-3 Proteine.

Außerdem befinden sich in den BK-RiV-Partikeln Proteine, die bereits als Tumorsuppressoren identifiziert wurden. In diese Gruppe gehören die Proteine Nm23<sup>16</sup> und S100A2<sup>17</sup>. Aber auch das Protein 14-3-3zeta muss in diesem Zusammenhang erwähnt werden. Es ist zwar selbst kein Tumorsuppressor, kann aber die Aktivität des bekannten Tumorsuppressors p53 verstärken<sup>18</sup>.

Ein weiterer wichtiger Bestandteil des BK-RiV sind unterschiedliche Histone. Histone wurden als DNA-bindende Proteine im Zellkern entdeckt. Mittlerweile scheint sich jedoch die Erkenntnis zu erhärten, dass Histone auch wichtige Funktionen außerhalb der Zelle ausüben können. So können extrazelluläre Histone (oder deren Spaltprodukte) Hormone freisetzen<sup>19</sup>, die Regeneration des Knochenmarks verbessern<sup>20</sup>, den Immunstatus gegen Tumore erhöhen<sup>21</sup>, antimikrobiell wirken<sup>22</sup> und die Reifung und Aktivität von Dendritischen Zellen und T-Zellen beeinflussen<sup>23</sup>.

Der Wirkmechanismus von BK-RiV ist auf molekularer Ebene noch nicht endgültig geklärt und kann sicherlich nicht auf ein einzelnes Prinzip oder einen einzelnen Faktor reduziert werden. Genauso wenig lässt sich die Wirkung nur als Summe der Einzelwirkungen der isolierten BK-RiV-Proteine verstehen. Erst durch die partikuläre Struktur wird eine Wirkqualität erreicht, die es den enthaltenen Polypeptiden ermöglicht, auf mehreren Ebenen ein effektives Abwehrsystem zu organisieren.

## Quellen

- 1 Untersuchungen zur immunmodulatorischen Wirkung hoch konservierter Protein-Nuklein-Komplexe (PNACs)  
Ölke, B. (2009) *Diplomarbeit, Institut für Anatomie, Universität zu Lübeck*
- 2 Charakterisierung der humoralen Immunantwort von C57BL/6-Mäusen nach Infektion mit *Leishmania major*  
Kunz, N. (2013) *Masterarbeit, Institut für Anatomie, Universität zu Lübeck*
- 3 Die Autoimmunerkrankung Epidermolysis bullosa acquisita: Modulation über das adaptive Immunsystem in der Effektorphase und Beeinflussung der Wundheilung durch Protein-Nukleinsäure-Komplexe  
Hauenschild, E. M. (2014) *Dissertation, Institut für Anatomie, Universität zu Lübeck*
- 4 Elevated expression of phosphatidylserine in the outer membrane leaflet of human tumor cells and recognition by activated human blood monocytes  
Utsugi, T. *et al.* (1991) *Cancer Res*, 51, 3062-3066
- 5 A novel assay for apoptosis. Flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled Annexin V  
Vermes, I. *et al.* (1995) *J Immunol Methods*, 184, 39-51
- 6 Effect of X31 influenza virus fusion on phosphatidylserine asymmetry in erythrocytes  
Pak, C. C. *et al.* (1996) *Biochim Biophys Acta*, 1278, 98-104
- 7 Phosphatidylserine is a marker of tumor vasculature and a potential target for cancer imaging and therapy  
Ran, S. *et al.* (2002) *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 54, 1479-1484
- 8 Galectin-3 binding potentials of mouse tumor EHS and human placental laminins  
Ochieng, J. *et al.* (1995) *Biochem Biophys Res Commun*, 217, 402-406
- 9 Structure and function of the ion channel model system annexin V  
Voges, D. *et al.* (1995) *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, 71, 209-239
- 10 Untersuchungen zu Interaktionen ausgewählter RiV- Proteine  
Merkert, S. (2005) *Bachelorarbeit, Institut für Biologie, Universität zu Lübeck*
- 11 Endonexin II, present on human liver plasma membranes, is a specific binding protein of small hepatitis B virus (HBV) envelope protein  
Hertogs, K. *et al.* (1993) *Virology*, 197, 549-557
- 12 HIV-1 antiviral activity of recombinant natural killer cell enhancing factors, NKEF-A and NKEF-B, members of the peroxiredoxin family  
Geiben-Lynn, R. *et al.* (2003) *J Biol Chem*, 278, 1569-1574
- 13 Immunogenic cell death and DAMPs in cancer therapy  
Krysko, D. V. *et al.* (2012) *Nat Rev Cancer*, 12, 860-875
- 14 Definition of extracellular localized epitopes of Hsp70 involved in an NK immune response  
Botzler, C. *et al.* (1998) *Cell Stress Chaperones*, 3, 6-11
- 15 Calreticulin exposure increases cancer immunogenicity  
Clarke, C. *et al.* (2007) *Nat Biotechnol*, 25, 192-193
- 16 Nm23 and breast cancer metastasis  
Steeg, P. S. *et al.* (1993) *Breast Cancer Res Treat*, 25, 175-187
- 17 Repression of the candidate tumor suppressor gene S100A2 in breast cancer is mediated by site-specific hypermethylation  
Wicki, R. *et al.* (1997) *Cell Calcium*, 22, 243-254
- 18 ATM-dependent activation of p53 involves dephosphorylation and association with 14-3-3 proteins  
Waterman, M. J. *et al.* (1998) *Nat Genet*, 19, 175-178
- 19 Gonadotrophin-releasing activity of histones H2A and H2B  
Brown, O. A. *et al.* (1998) *Cell Mol Life Sci*, 54, 288-294
- 20 Histone H4-related osteogenic growth peptide (OGP): a novel circulating stimulator of osteoblastic activity  
Bab, I. *et al.* (1992) *Embo J*, 11, 1867-1873
- 21 Histone H1 modulates immune status in experimental breast cancer  
Vani, G. *et al.* (2003) *Chemotherapy*, 49, 252-256
- 22 Mechanism of action of the antimicrobial peptide buforin II: buforin II kills microorganisms by penetrating the cell membrane and inhibiting cellular functions  
Park, C. B. *et al.* (1998) *Biochem Biophys Res Commun*, 244, 253-257
- 23 The role of a nuclear protein, histone H1, on signalling pathways for the maturation of dendritic cells  
Hsu, L. W. *et al.* (2008) *Clin Exp Immunol*, 152, 576-584