

Aus dem
Institut für Kardiovaskuläre Physiologie und Pathophysiologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Professor Dr. med. Christian Wahl-Schott

Regulationsmechanismen der Rekrutierung von Leukozyten während des akuten Entzündungsgeschehens



Kumulative Habilitationsschrift

Zur Erlangung der Lehrbefähigung (venia legendi)
für das Fach Physiologie
vorgelegt von

Dr. Roland Immler

(2026)

Fachmentorat

Prof. Dr. med. Christian Wahl-Schott

Prof. Dr. med. Markus Sperandio

Prof. Dr. rer. nat. Jürgen Bernhagen

Inhaltsverzeichnis

1. Vorwort.....	- 3 -
2. Einleitung.....	- 4 -
3. Zielsetzung.....	- 9 -
4. Verzeichnis der in der Habilitationsschrift zusammengefassten Publikationen	- 10 -
5. Ergebnisse und Diskussion	- 11 -
5.1 Die Rolle des spannungsabhängigen Kaliumkanals Kv1.3 auf die Funktion neutrophiler Granulozyten.....	- 11 -
5.2 Die Funktion neutrophiler Granulozyten bei Nierendysfunktion	- 17 -
5.3 Die Rolle der Sialyltransferase St3-Gal-IV bei der Rekrutierung eosinophiler Granulozyten	- 21 -
6. Zusammenfassung und Ausblick.....	- 23 -
7. Literaturverzeichnis	- 26 -
8. Abkürzungsverzeichnis	- 33 -
9. Danksagung	- 35 -
10. Eidesstattliche Versicherung.....	- 36 -
11. Schriftenverzeichnis.....	- 37 -
11.1 Originalarbeiten als Erst-, oder Letztautor.....	- 37 -
11.2 Originalarbeiten als Ko-Autor	- 38 -
11.3 Übersichtsartikel/Reviews	- 40 -
11.4 Sonstige Veröffentlichungen	- 40 -

1. Vorwort

Diese kumulative Habilitationsschrift befasst sich mit den Mechanismen, die die Rekrutierung verschiedener Leukozytensubpopulationen an Entzündungsherde steuern. Ziel der Arbeit war es, die zugrundeliegenden Regulationsprozesse besser zu verstehen und neue Erkenntnisse über die Rolle einzelner Zellpopulationen im Entzündungsgeschehen zu gewinnen.

Die Untersuchungen wurden am Institut für Kardiovaskuläre Physiologie und Pathophysiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München (Direktor: Prof. Dr. med. Christian Wahl-Schott) durchgeführt – sowohl in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. med. Markus Sperandio als auch in meiner eigenen Forschungsgruppe. Die Projekte entstanden in enger Zusammenarbeit mit zahlreichen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern aus Deutschland und weltweit, deren Expertise und Unterstützung maßgeblich zum Erfolg der Arbeit beigetragen haben.

2. Einleitung

Akut und chronisch entzündliche Prozesse spielen eine zentrale Rolle in der Pathogenese zahlreicher gesellschaftlich relevanter Erkrankungen, darunter Atherosklerose, Typ II Diabetes mellitus oder Adipositas (Németh et al., 2020). Ein charakteristisches Merkmal dieser Erkrankungen ist die Rekrutierung von Leukozyten aus der Zirkulation in das betroffene Gewebe (Kolaczowska & Kubes, 2013; Ley et al., 2007; Maier-Begandt et al., 2024). Dieser mehrstufige Prozess wird durch funktionelle Veränderungen des Endothels postkapillärer Venolen im entzündeten Gewebe initiiert (Abbildung 1A) (Vestweber, 2015). Dabei präsentieren Endothelzellen Adhäsionsmoleküle an ihrer luminalen Oberfläche, die entweder *de novo* synthetisiert werden müssen, oder bereits in der Zelle vorhanden sind. Diese Mechanismen steuern die Rekrutierung von Immunzellen, wie im Folgenden exemplarisch anhand neutrophiler Granulozyten dargestellt werden soll.

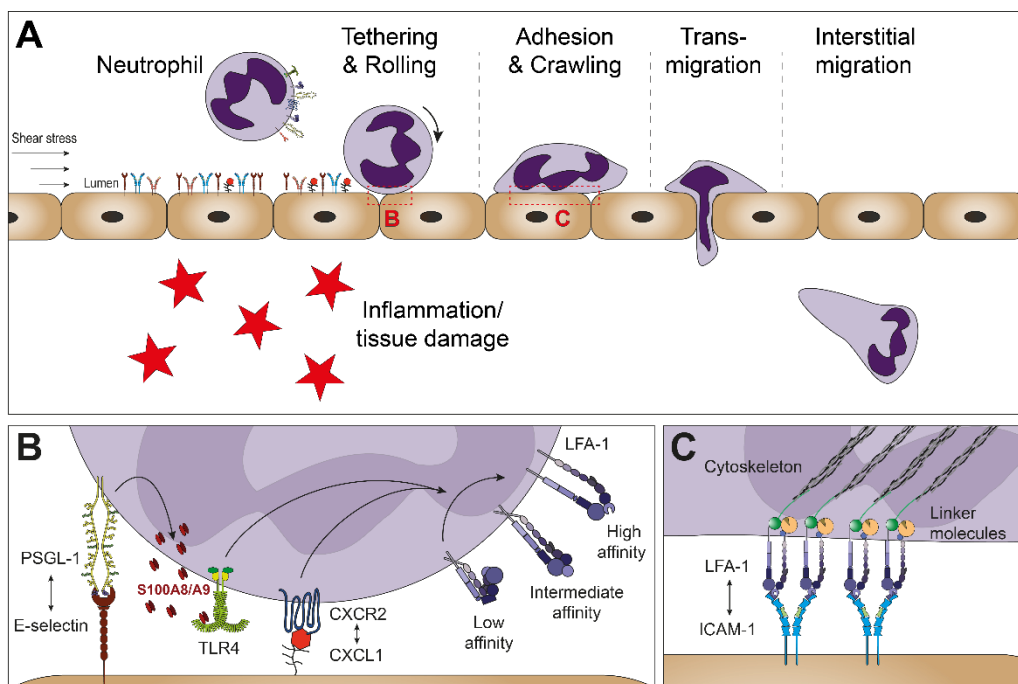


Abbildung 1 Die Leukozytenrekrutierungskaskade. (A) Die Rekrutierung von Leukozyten (hier am Beispiel neutrophiler Granulozyten) erfolgt in einer sequenziellen Kaskade, die mit der Auswanderung der Zellen in das entzündlich veränderte Gewebe endet. (B) Das E-Selektin-vermittelte Rollen in Kombination mit der Aktivierung von Chemokinrezeptoren führt zur Aktivierung und Konformationsänderung von β_2 -Integrinen (z.B. LFA-1) auf den Leukozyten (integrin inside-out signaling). (C) Die aktivierten Integrine können so an ihre endothelialen Liganden (z.B. ICAM-1) binden, was zur Kopplung der Integrine an das Aktinzytoskelett des neutrophilen Granulozyten (integrin outside-in signaling) und zur festen Adhäsion der Immunzelle führt.

Selektine (P- und E-Selektin), die in Folge der Aktivierung von Endothelzellen an der luminalen Oberfläche präsentiert werden, fangen zirkulierende neutrophile

Granulozyten ein (*tethering*) und initiieren das Entlangrollen am entzündlich-veränderten Endothel (*rolling*) (Schmidt et al., 2013). Dieser Prozess wird wesentlich durch die Interaktion von PSGL-1 (P-Selectin glycoprotein ligand-1) mit den Selektinen vermittelt (Tinoco et al., 2017).

Während des Rollvorgangs interagieren die Immunzellen mit auf dem Endothel immobilisierten Chemokinen (z.B. CXCL1; C-X-C motif chemokine ligand 1), die an spezifische Chemokinrezeptoren auf den neutrophilen Granulozyten (z.B. CXCR2; C-X-C motif chemokine receptor 2) binden (Abbildung 1B) (Ley et al., 2007). Entscheidend für die Bindung von Chemokinen ist dabei die Glykosylierung der Rezeptoren, vermittelt durch Glykosyltransferasen wie St3-Gal-IV (Frommhold et al., 2008). Parallel zur Aktivierung von Chemokinrezeptoren löst die Bindung von E-Selektin an neutrophile Granulozyten die Freisetzung endogener Entzündungsmediatoren aus, sogenannter DAMPs (*damage associated molecular patterns*) wie S100A8/A9 (Pruenster et al., 2015). Diese *alarmin*-Moleküle binden wiederum an den Toll like receptor 4 (TLR4) der neutrophilen Granulozyten. Beide Rezeptor-Liganden-Interaktionen führen zusammen zur Aktivierung von β_2 -Integrinen (z.B. LFA-1, *Lymphocyte function-associated antigen-1*) auf den Immunzellen, die nun mit endothelialen Adhäsionsmolekülen, insbesondere ICAM-1 (*Intercellular adhesion molecule-1*) interagieren können (Mócsai et al., 2015; Smith et al., 2004). Dies bewirkt eine Verlangsamung der Rollgeschwindigkeit bis hin zur vollständigen Adhäsion der neutrophilen Granulozyten am Endothel.

Die Bindung der Integrine an ihre Rezeptoren initiiert Signalwege in neutrophilen Granulozyten (*integrin outside-in signaling*), die zur Verknüpfung der Integrine mit dem Aktinzytoskelett führen (Morikis & Simon, 2018) – ein Prozess, der als *post-arrest modifications* zusammengefasst wird (Abbildung 1C). Die dadurch induzierte Umstrukturierung des Zytoskeletts verstärkt die Zelladhäsion an das Endothel (*adhesion strengthening*) und ermöglicht das Abflachen der Immunzellen (*flattening*), wodurch sie der Schubspannung im Gefäß standhalten und ein Abreißen zurück in die Zirkulation verhindern.

In der nächsten Phase migrieren die Zellen anhand von Chemokingradienten entlang am Endothel, um einen geeigneten Ort zur Transmigration zu finden (*intraluminal crawling*) (Vestweber, 2015). Schließlich durchwandern die neutrophilen Granulozyten sowohl die Endothelzellschicht als auch die darunterliegende vaskuläre

Basalmembran, um anschließend zum Entzündungsherd zu gelangen (*interstitial migration*) (Kurz et al., 2016; Rohwedder et al., 2020).

Eine zentrale Rolle bei der Leukozytenrekrutierung und der Ausführung wichtiger Funktionen von Immunzellen spielt die Regulation der intrazellulären Ionenkonzentrationen (Dixit & Simon, 2012). So führt die Aktivierung von Chemokinrezeptoren (*G protein-coupled receptors, GPCRs*), F_c -Rezeptoren oder die Interaktion von β_2 -Integrinen (z.B. LFA-1) mit ihren Liganden (z.B. ICAM-1; *integrin outside-in signaling*) zu einem Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration (*calcium signaling*; Abbildung 2A) (Immler et al., 2018).

Dabei kommt es initial zur Spaltung von Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP_2) in Inositol-1,4,5-triphosphat (IP_3), vermittelt durch die Phospholipase C ($PLC-\beta$ bzw. $PLC-\gamma$). Daraufhin bindet IP_3 an den entsprechenden Rezeptor (IP_3R) im endoplasmatischen Retikulum (ER) und bewirkt dort die Freisetzung von Kalziumionen (Ca^{2+}) ins Zytoplasma. Die Entleerung des intrazellulären Ca^{2+} -Speichers wird durch Ca^{2+} -Sensoren wie STIM1 (*stromal interaction molecule 1*) in der ER-Membran detektiert, die wiederum *calcium-release activated calcium (CRAC)*-Kanäle, wie Orai1 (*Calcium-release-activated calcium modulator-1*), in der Zellmembran aktivieren (Clemens & Lowell, 2019).

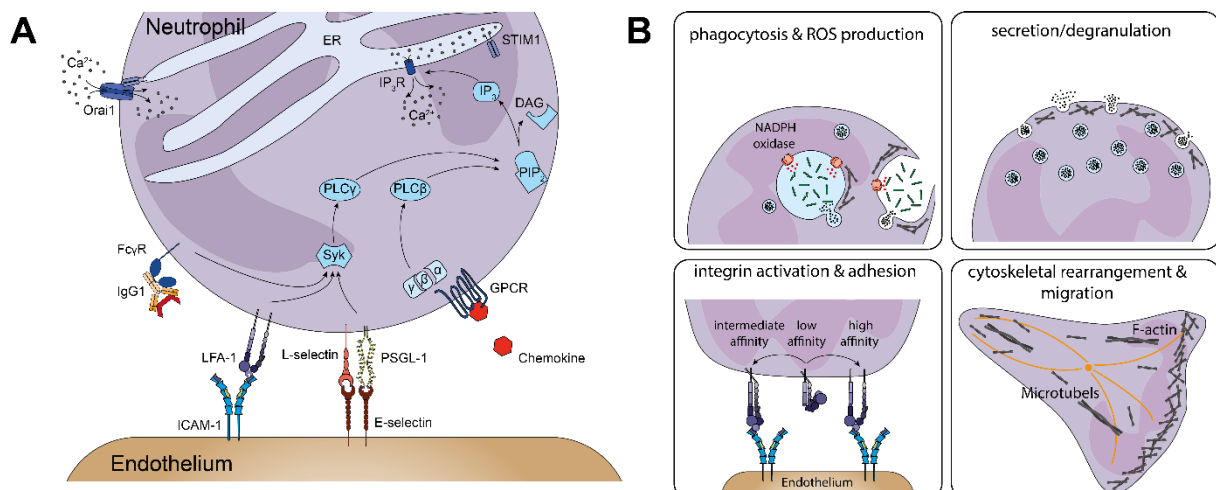


Abbildung 2 Kalziumsignalkaskade in neutrophilen Granulozyten. (A) Verschiedene Rezeptor-Ligandeninteraktionen aktivieren Signaltransduktionskaskaden, die zur Freisetzung von Ca^{2+} aus dem endoplasmatischen Retikulum (ER) führen. Eine Entleerung dieses Ca^{2+} -Speichers induziert die Öffnung von Ca^{2+} -Kanälen in der Zellmembran (z.B. Orai1), wodurch extrazelluläres Ca^{2+} in die Zelle einströmt. (B) Der resultierende Ca^{2+} -Einstrom ist essenziell für zahlreiche Effektorfunktionen neutrophiler Granulozyten. Modifiziert aus (Immler et al., 2018).

In der Folge kommt es zu einem massiven Einstrom von Ca^{2+} aus dem Extrazellulärraum in die Zelle – ein Mechanismus, der als *store-operated calcium entry* (SOCE) bezeichnet wird (Feske et al., 2015). SOCE ist essenziell für zentrale Immunfunktionen wie die Phagozytose, die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) sowie die Reorganisation des Aktinzytoskeletts und damit für die Zellmigration (Abbildung 2B).

Neben CRAC-Kanälen sind zahlreiche weitere Ionenkanäle an der Regulation der intrazellulären Ca^{2+} -, bzw. Ionenkonzentration in Immunzellen beteiligt (Feske et al., 2015; Immler et al., 2018). So ist beispielsweise bekannt, dass der spannungsabhängige Kalium- (K^+) Kanal $\text{K}_v1.3$ in T-Lymphozyten einen langanhaltenden Ca^{2+} -Einstrom (*sustained Ca^{2+} influx*) unterstützt, indem der über diesen Kanal vermittelte K^+ -Ausstrom zur Stabilisierung des Membranpotentials beiträgt (Abbildung 3) (Pérez-García et al., 2018). Interessanterweise wurden spannungsabhängige K^+ -Ströme bereits frühzeitig auch in neutrophilen Granulozyten beschrieben (Krause & Welsh, 1990), jedoch konnte bislang kein spezifischer Kanal diesen Strömen zugeordnet werden.

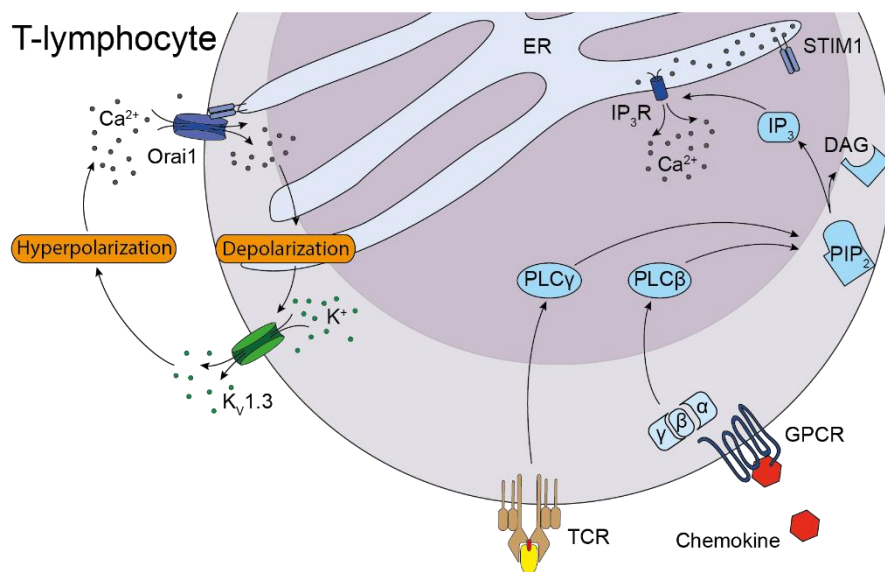


Abbildung 3 Die Rolle von $\text{K}_v1.3$ in T-Lymphocyten. Die Aktivierung von T-Lymphocyten führt zu einem Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration (SOCE), was eine Depolarisierung des Membranpotentials zur Folge hat. Diese Depolarisierung aktiviert den Kaliumkanal $\text{K}_v1.3$, wodurch K^+ -Ionen ausströmen. Dies stabilisiert das Membranpotential durch eine relative Hyperpolarisierung und ermöglicht einen anhaltenden Ca^{2+} -Einstrom aus dem Extrazellulärraum in die Immunzelle (*sustained Ca^{2+} signaling*). Aus (Immler, 2019)

Aufgrund der zentralen Bedeutung der intrazellulären Ca^{2+} - und Ionenkonzentration für die Funktionsweise von Immunzellen gelten Ionenkanäle - insbesondere $\text{K}_v1.3$ - als vielversprechende pharmakologische Zielstrukturen zur Behandlung von

Immunzell dysregulationen (Chandy & Norton, 2017; Zhang et al., 2023). Ein vertieftes Verständnis ihrer Funktionsweise sowie der differentiellen Expression in verschiedenen Leukozytensubpopulationen ist nicht nur für die Grundlagenforschung zur akuten Immunantwort von Bedeutung, sondern auch für die gezielte therapeutische Nutzung von Kanalinhhibitoren oder -aktivatoren.

3. Zielsetzung

Die vorliegende Habilitationsschrift basiert auf Forschungsarbeiten aus der medizinischen Grundlagenforschung. Ziel dieser Arbeit war es, die Funktionsweise verschiedener Leukozytensubpopulationen besser zu verstehen und potenzielle Ansatzpunkte für therapeutische Interventionen bei Leukozytendysfunktionen zu identifizieren.

Im Mittelpunkt stand dabei die Untersuchung des spannungsabhängigen Kaliumkanals $K_v1.3$ und seiner Rolle bei der Regulation der Rekrutierung neutrophiler Granulozyten sowie bei der Freisetzung des endogenen Entzündungsmediators S100A8/A9 aus diesen Zellen.

Darüber hinaus wurde analysiert, inwieweit sich die Funktion neutrophiler Granulozyten bei verschiedenen Formen der Nierendysfunktion verändert.

Abschließend erfolgte eine Untersuchung eosinophiler Granulozyten – einer den neutrophilen Granulozyten nahe verwandten Zellpopulation – mit Fokus auf die Bedeutung der Glykosylierung von Chemokinrezeptoren für den Rekrutierungsvorgang.

4. Verzeichnis der in der Habilitationsschrift zusammengefassten Publikationen

Immler, R., Nadolni, W., Bertsch, A., Morikis, V., Rohwedder, I., Masgrau-Alsina, S., Schroll, T., Yevtushenko, A., Soehnlein, O., Moser, M., Gudermann, T., Barnea, E. R., Rehberg, M., Simon, S. I., Zierler, S., Pruenster, M. and Sperandio, M., The voltage-gated potassium channel Kv1.3 regulates neutrophil recruitment during inflammation. *Cardiovascular Research* 2022. **118**: 1289-1302.

DOI: [10.1093/cvr/cvab133](https://doi.org/10.1093/cvr/cvab133)

IF: 10.9

Pruenster, M.*, **Immler, R.***, Roth, J., Kuchler, T., Bromberger, T., Napoli, M., Nussbaumer, K., Rohwedder, I., Wackerbarth, L. M., Piantoni, C., Hennis, K., Fink, D., Kallabis, S., Schroll, T., Masgrau-Alsina, S., Budke, A., Liu, W., Vestweber, D., Wahl-Schott, C., Roth, J., Meissner, F., Moser, M., Vogl, T., Hornung, V., Broz, P. and Sperandio, M., E-selectin-mediated rapid NLRP3 inflammasome activation regulates S100A8/S100A9 release from neutrophils via transient gasdermin D pore formation. *Nature Immunology* 2023. *: **equal contribution**

DOI: [10.1038/s41590-023-01656-1](https://doi.org/10.1038/s41590-023-01656-1)

IF: 27.8

Ma, Q.*, **Immler, R.***, Pruenster, M., Sellmayr, M., Li, C., von Brunn, A., von Brunn, B., Ehmann, R., Wölfel, R., Napoli, M., Li, Q., Romagnani, P., Böttcher, R. T., Sperandio, M., Anders, H.-J. and Steiger, S., Soluble uric acid inhibits β_2 integrin-mediated neutrophil recruitment in innate immunity. *Blood* 2022. **139**: 3402-3417. *: **equal contribution**

DOI: [10.1182/blood.2021011234](https://doi.org/10.1182/blood.2021011234)

IF: 20.3

Immler, R.*, Lange-Sperandio, B.*, Steffen, T., Beck, H., Rohwedder, I., Roth, J., Napoli, M., Hupel, G., Pfister, F., Popper, B., Uhl, B., Mannell, H., Reichel, C. A., Vielhauer, V., Scherberich, J., Sperandio, M. and Pruenster, M., Extratubular Polymerized Uromodulin Induces Leukocyte Recruitment and Inflammation In Vivo. *Frontiers in Immunology* 2020. **11**. *: **equal contribution**

DOI: [10.3389/fimmu.2020.588245](https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.588245)

IF: 7.561

Immler, R., Nussbaumer, K., Doerner, A., El Bounkari, O., Huber, S., Abisch, J., Napoli, M., Schmidt, S., Margraf, A., Pruenster, M., Rohwedder, I., Lange-Sperandio, B., Mall, M. A., de Jong, R., Ohnmacht, C., Bernhagen, J., Voehringer, D., Marth, J. D., Frommhold, D. and Sperandio, M., CCR3-dependent eosinophil recruitment is regulated by sialyltransferase ST3Gal-IV. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2024. **121**: e2319057121.

DOI: [10.1073/pnas.2319057121](https://doi.org/10.1073/pnas.2319057121)

IF: 9.4

5. Ergebnisse und Diskussion

5.1 Die Rolle des spannungsabhängigen Kaliumkanals Kv1.3 auf die Funktion neutrophiler Granulozyten (Immler et al. 2022, CVR und Pruenster*, Immler* et al. 2023, Nat. Immunol.)

Der spannungsgesteuerte Kaliumkanal Kv1.3 (KCNA3) gehört zur Unterfamilie der *shaker-related* K⁺-Kanäle (Pérez-García et al., 2018). Er setzt sich aus je 4 α -Untereinheiten zusammen, die jeweils aus 6 Transmembranhelices bestehen (Abbildung 4). Sowohl die N- als auch die C-Termini der α -Untereinheiten besitzen zytoplasmatische Domänen, die vermutlich an K⁺-Ausstrom-abhängigen und unabhängigen Prozessen beteiligt sind (Lee et al., 2014; Pongs & Schwarz, 2010). N-Terminal befindet sich die Bindesequenz (Kv β BD; Kv β binding domain) für die β -Untereinheit von Kv1.3, die unter anderem eine wichtige Rolle bei der Inaktivierung des Kanals zu spielen scheint (Pongs & Schwarz, 2010).

Ein Großteil des Wissens über die Funktion und pharmakologische Regulation von Kv1.3 stammt aus Studien mit T-Lymphozyten (Pérez-García et al., 2018). Neben T-Zellen exprimieren jedoch auch andere Immunzellen wie B-Lymphozyten, natürliche Killerzellen (NK-Zellen), Monozyten, Makrophagen und dendritische Zellen (DCs) Kv1.3 (Pérez-García et al., 2018), ebenso wie Thrombozyten (Taylor & Mahaut-Smith, 2021). Darüber hinaus findet sich Kv1.3 in Astrozyten, Oligodendrozyten, Mikrogliazellen und glatten Gefäßmuskelzellen (Pérez-García et al., 2018).

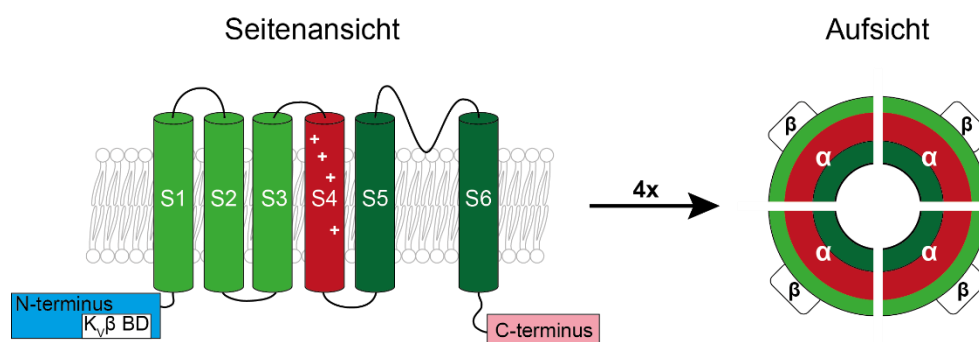


Abbildung 4 Schematische Darstellung von Kv1.3. (A) Eine α -Untereinheit setzt sich aus je 6 Transmembranhelices (S1-S6) zusammen, wobei die Kanalpore aus den S5 und S6-Helices gebildet wird. N- und C-Terminus befindet sich intrazellulär, mit einer Bindesequenz für die β -Untereinheit N-terminal (Kv β BD). (B) 4 α -Untereinheiten bilden schlussendlich den Kanal. Modifiziert aus (Pérez-García et al., 2018).

Wie bereits erwähnt, wird Kv1.3 durch eine Veränderung des Membranpotentials – beispielsweise infolge von *SOCE* und einem damit einhergehenden Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) – aktiviert, wodurch es zu einem K^+ -Ausstrom kommt (Abbildung 3) (Feske et al., 2015). Dieser Kationenfluss wirkt der Depolarisierung der Zelle entgegen und stabilisiert das Membranpotential, was wiederum einen anhaltenden Ca^{2+} -Einstrom in das Zellinnere ermöglicht (*sustained Ca^{2+} influx*). In T-Lymphozyten ist Kv1.3 an der Regulation zahlreicher Funktionen beteiligt, darunter Zellproliferation (klonale Expansion nach Antigenpräsentation), Zytokinproduktion und Zellmigration (Pérez-García et al., 2018).

Interessanterweise wird Kv1.3 speziell in *effector memory* T (T_{EM})-Zellen hochreguliert (Wulff et al., 2003), die eine entscheidende Rolle bei vielen T-Zell-vermittelten Autoimmunerkrankungen spielen (Devarajan & Chen, 2013). Im Gegensatz dazu ist die Expression in naiven oder *central memory* T (T_{CM})-Zellen deutlich geringer. Diese differenzielle Expression macht Kv1.3 zu einem vielversprechenden therapeutischen Ziel für Autoimmunerkrankungen. Tatsächlich konnten verschiedene Tiermodelle zeigen, dass die Inhibition von Kv1.3 den Krankheitsverlauf unter anderem bei Multipler Sklerose (MS) (Beeton et al., 2001), Typ I Diabetes mellitus (Beeton et al., 2006), Parkinson (Sarkar et al., 2020) und Psoriasis (Schuppenflechte) (Kundu-Raychaudhuri et al., 2014) positiv beeinflusst. In einer Phase-1b-Studie zeigte der Kv1.3-spezifische Inhibitor Dalazatide (ShK-186) zudem vielversprechende klinische Effekte bei Patientinnen und Patienten mit Schuppenflechte – bei gleichzeitig guter Verträglichkeit (Tarcha et al., 2017).

In Zusammenarbeit mit Kolleginnen und Kollegen aus Deutschland und den USA konnte unsere Arbeitsgruppe erstmals nachweisen, dass Kv1.3 auch in neutrophilen Granulozyten exprimiert wird (Immler et al., 2022). Funktionelle Analysen zeigten, dass Kv1.3 in neutrophilen Granulozyten einen langanhaltenden Ca^{2+} -Einstrom ermöglicht (Abbildung 5). Dieses *sustained Ca^{2+} signaling* stellt eine entscheidende Voraussetzung für die feste Adhäsion neutrophiler Granulozyten am Endothel dar und fördert den Übergang vom adhärenen zum migratorischen Phänotyp (*post-arrest modifications*).

Sowohl die pharmakologische Inhibition als auch die genetische Deletion von Kv1.3 (*Kcna3*^{-/-}-Mäuse) führten *in vivo* zu einer Reduktion der Adhäsion neutrophiler Granulozyten an das Endothel im Cremastermuskelmodell nach Tumornekrosefaktor

(TNF)-Applikation sowie *in vitro* zu einem gestörten *crawling*-Verhalten unter Flussbedingungen (*flow chamber assays*). Darüber hinaus spielt Kv1.3 eine Rolle bei der Regulation der Phagozytoseaktivität. Mit dieser Arbeit konnten wir Kv1.3 nicht nur erstmals funktionell in neutrophilen Granulozyten charakterisieren, sondern auch Hinweise auf die zentrale Bedeutung erhöhter $[Ca^{2+}]_i$ für die *post-arrest modifications* liefern.

In einer weiterführenden Studie untersuchte unsere Arbeitsgruppe diesen Zusammenhang genauer, wobei sich zeigte, dass hohe $[Ca^{2+}]_i$ speziell an den Integrinclustern eine zentrale Rolle für die effektive Verknüpfung der Integrine mit dem Aktinzytoskelett spielen (Napoli et al., 2024).

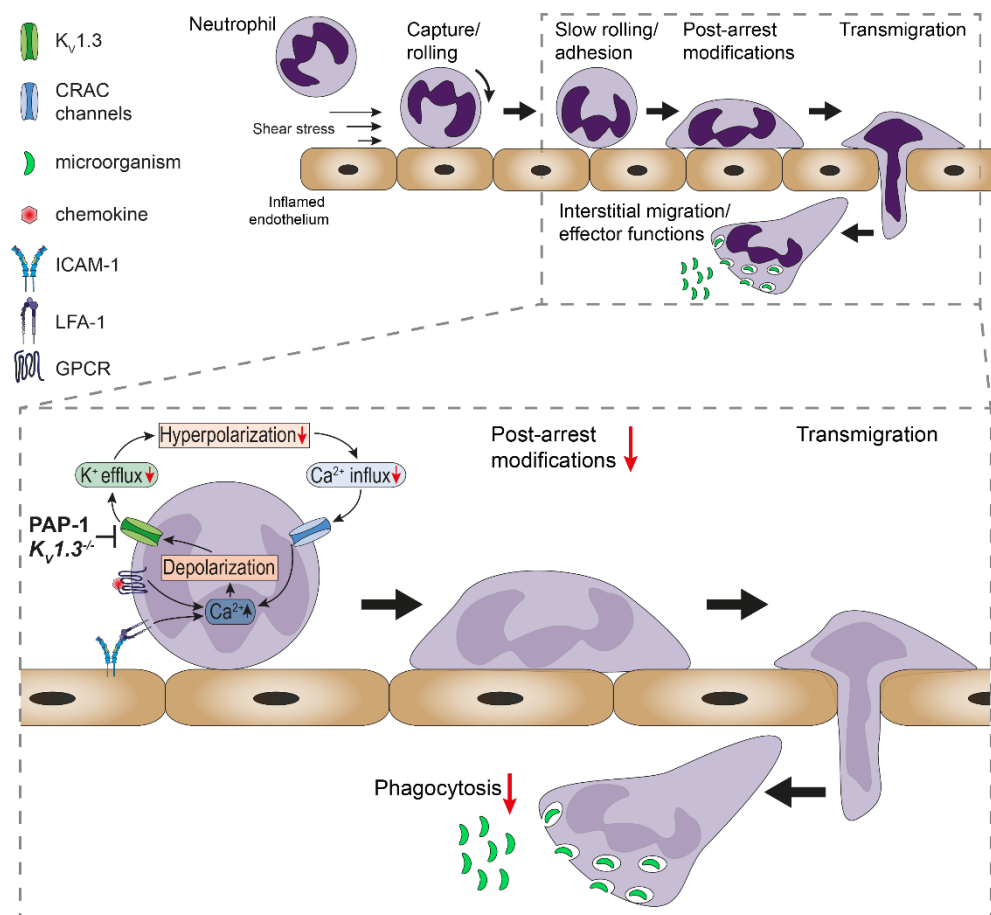


Abbildung 5 Funktionsweise des spannungsabhängigen Kaliumkanals Kv1.3 während der Rekrutierung neutrophiler Granulozyten. Die Aktivierung von Kv1.3 und der daraus resultierende K⁺-Ausstrom ermöglicht einen langanhaltenden Ca²⁺-Einstrom in die Zelle (sustained Ca²⁺ signaling). Dieser Einstrom ist essenziell für die feste Adhäsion, das Abflachen der Zelle sowie den Übergang in die Migration (*crawling*) des neutrophilen Granulozyten (*post-arrest modifications*). Darüber hinaus spielt Kv1.3 eine wichtige Rolle bei der Phagozytose. Eine pharmakologische Inhibition mittels 5-(4-phenoxybutoxy) psoralen (PAP-1) oder die genetische Deletion von Kv1.3 (Kv1.3^{-/-}) führt zu einer Reduktion des sustained Ca²⁺ signaling und beeinträchtigt sowohl die *post-arrest modifications* sowie die Phagozytoseaktivität (rote Pfeile). Modifiziert aus (Immler et al., 2022).

In einem Folgeprojekt untersuchte unsere Arbeitsgruppe die Rolle von Kv1.3 bei der aktiven Freisetzung des DAMPs S100A8/A9 (*MRP8/14*, *Calprotectin*) aus neutrophilen Granulozyten. S100A8/A9 ist ein Heterodimer aus der Familie der Ca²⁺-bindenden S100 Proteine, das vor allem von myeloiden Zellen (neutrophilen Granulozyten, Monozyten) produziert und sezerniert wird (Pruenster et al., 2016). Die Freisetzung dieses zytosolischen Proteins kann entweder passiv (durch lytischen Zelltod) oder aktiv (durch kontrollierte Sekretion) erfolgen. Klinisch dient die Messung von S100A8/A9-Spiegeln im Blut oder Stuhl als wichtiger Marker zur Bestimmung der Krankheitsaktivität und zur therapeutischen Verlaufskontrolle bei zahlreichen entzündlichen Erkrankungen wie Colitis ulcerosa, rheumatoider Arthritis oder Psoriasis (Pruenster et al., 2016).

Bereits in früheren Arbeiten konnte unsere Arbeitsgruppe – in Zusammenarbeit mit Forschenden aus Deutschland, Schweden und den USA – zeigen, dass die aktive Freisetzung von S100A8/A9 aus murinen neutrophilen Granulozyten während des Rollens am entzündlich veränderten Endothel durch die Interaktion von PSGL-1 mit E-Selektin vermittelt wird (Pruenster et al., 2015). Das so freigesetzte S100A8/A9 aktiviert über die Bindung an TLR4 β_2 -Integrine (Abbildung 1B).

Forschende aus den USA bestätigten diese Befunde auch im humanen System, allerdings mit dem Unterschied, dass hier die Sekretion von S100A8/A9 durch die Interaktion von L-Selektin mit E-Selektin gesteuert wird (Morikis et al., 2017). Der genaue intrazelluläre Signalweg, über den die aktive Ausschüttung von S100A8/A9 erfolgt, war jedoch bislang unklar.

In Zusammenarbeit mit Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern aus Deutschland und der Schweiz konnten wir nachweisen, dass die E-Selektin-abhängige Sekretion von S100A8/A9 aus neutrophilen Granulozyten durch das NLRP3 (NOD-, LRR- and pyrin domain-containing protein 3) -Inflammasom-vermittelt wird (Pruenster et al., 2023). Bisher wurde die Aktivierung dieses Inflammasoms vor allem im Zusammenhang mit der Freisetzung des proinflammatorischen Mediators Interleukin-1 β (IL-1 β) aus Monozyten und Makrophagen beschrieben (Swanson et al., 2019). Weiter konnte das NLRP3-Inflammasom auch in anderen Zelltypen, einschließlich nicht-Immunzellen, nachgewiesen werden (Honda et al., 2023).

Klassischerweise verläuft die Aktivierung des Inflammasoms in zwei Schritten - einer *priming*- und einer Aktivierungsphase - und ist ein mehrstündiger Prozess (Abbildung 6). Die *priming*-Phase ist durch die transkriptionelle Hochregulierung

zentraler Inflammasom-Komponenten wie Pro-Caspase-1, Gasdermin D (GSDMD) und Pro-IL-1 β gekennzeichnet (Swanson et al., 2019). Dies geschieht beispielsweise durch die Aktivierung von TLR4 mittels Lipopolysaccharid (LPS) oder durch die Stimulation der Zelle mit TNF oder IL-1 β . Darüber hinaus spielen posttranskriptionelle Modifikationen, wie die Phosphorylierung von NLRP3, eine entscheidende Rolle, da sie zur Stabilisierung des Inflammasoms beitragen (Swanson et al., 2019).

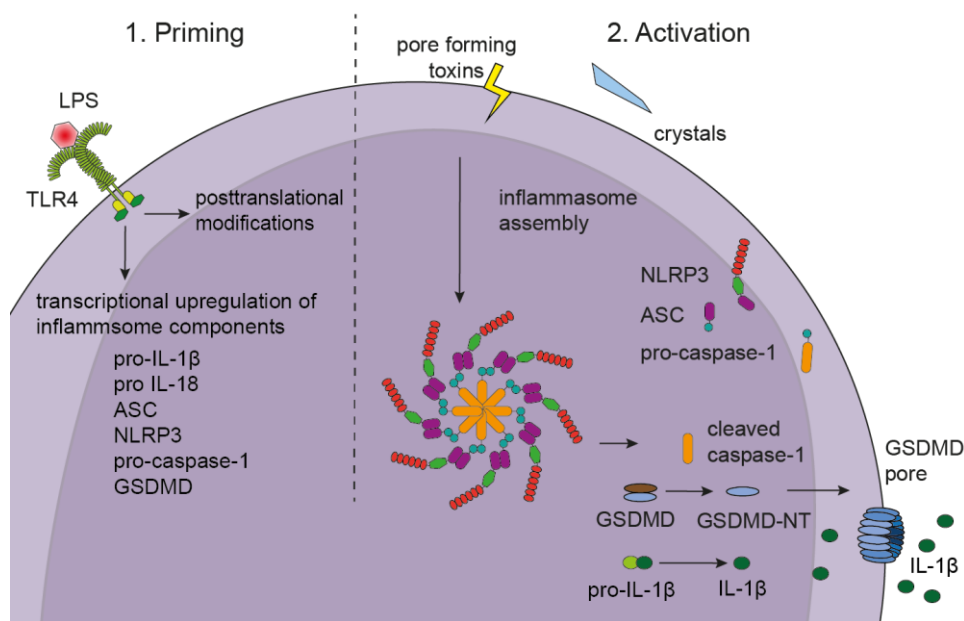


Abbildung 6 Die klassische NLRP3-Inflammasomaktivierung. Die klassische Aktivierung des NLRP3-Inflammasoms erfolgt in zwei Teilschritten: **1. Priming-Phase** – Beispielsweise durch eine TLR4-abhängige Signalübertragung kommt es zur transkriptionellen Hochregulierung wichtiger Inflammasombestandteile sowie zu posttranslationalen Modifikationen (v. a. an NLRP3). **2. Aktivierungs-Phase** – Die Aktivierung des Inflammasoms erfolgt z.B. durch Poren-bildende Toxine (wie Nigericin) oder Kristalle (wie MSU-Kristalle). Dies führt zur Bildung des Inflammasomkomplexes und zur Aktivierung von Caspase-1, welche GSDMD und Pro-IL-1 β spaltet. Der Einbau von GSDMD-Poren in die Zellmembran ermöglicht die Sekretion von IL-1 β .

Die eigentliche Aktivierung des Inflammasoms kann durch verschiedene Stimuli ausgelöst werden, darunter porenformende Toxine wie Nigericin, Harnsäure (Monosodium-Urat, MSU) –kristalle, oder hohe extrazelluläre Konzentrationen von Adenosintriphosphat (ATP) (Lara-Reyna et al., 2022). Infolgedessen bildet sich das Inflammasom – ein Multiproteinkomplex, u.a. bestehend aus NLRP3 (Sensor), dem Adaptorprotein ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD) und dem Effektorprotein Pro-Caspase-1. Eine zentrale Voraussetzung für die Bildung des dieses Komplexes ist dabei der Ausstrom von K⁺-Ionen aus der Zelle (Muñoz-Planillo et al., 2013).

Durch die Komplexbildung wird Caspase-1 proteolytisch aktiviert, was wiederum zur Spaltung und Aktivierung von GSDMD sowie der proinflammatorischen Zytokine Pro-IL-1 β und Pro-IL-18 führt (Swanson et al., 2019). Die N-terminalen Spaltprodukte von GSDMD (GSDMD-NT) integrieren sich in die Zellmembran und bilden Poren, durch die beispielsweise IL-1 β sezerniert wird (He et al., 2015). In der Regel resultiert die Inflammasomaktivierung und GSDMD-Porenbildung in einer lytischen Form des Zelltods, der sogenannten Pyroptose (Lara-Reyna et al., 2022).

Unsere Studien konnten nun zeigen, dass die Bindung von E-Selektin an seinen jeweiligen Liganden auf neutrophilen Granulozyten (L-Selektin beim Menschen, PSGL-1 bei Mäusen) ebenfalls zur Bildung des NLRP3-Inflammasomkomplexes führt. Dies geht mit der Aktivierung von Caspase-1 und der Bildung von GSDMD-Poren einher, über die das zytosolisch vorliegende S100A8/A9 freigesetzt wird (Abbildung 7).

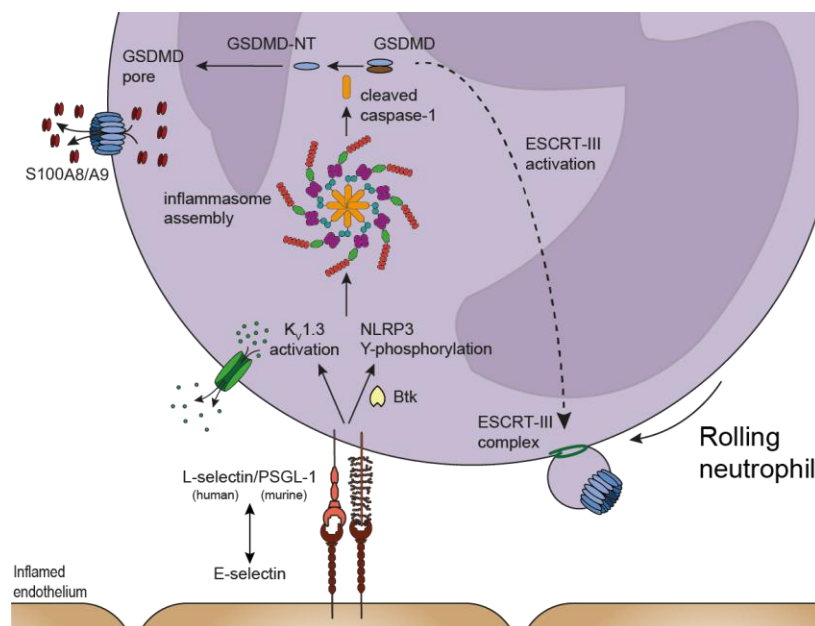


Abbildung 7 NLRP3-abhängige Freisetzung von S100A8/A9 unter Beteiligung von Kv1.3. Die Interaktion von E-Selektin mit seinen Rezeptoren auf dem neutrophilen Granulozyten führt innerhalb weniger Minuten zur Aktivierung des NLRP3-Inflammasoms und zur Bildung von GSDMD-Poren. Die Inflammasom-Aktivierung ist abhängig von der Bruton's Tyrosinkinase (btk)-vermittelten Phosphorylierung von NLRP3 sowie von der Aktivierung des Kaliumkanals Kv1.3. Durch die gebildeten Membranporen wird S100A8/A9 freigesetzt. Zusätzlich wird ein ESCRT-III-abhängiger Reparaturmechanismus aktiviert, der die GSDMD-Poren entfernt und so das Absterben der Zellen durch Pyroptose verhindert.

Im Gegensatz zur klassischen Inflammasomaktivierung verläuft dieser Prozess innerhalb weniger Minuten und erfordert keine vorhergehende *priming*-Phase. Durch die Bindung von E-Selektin an neutrophile Granulozyten kommt es zu einer

Bruton's tyrosine kinase (btk) –vermittelten Phosphorylierung von NLRP3 und einer Aktivierung von Kv1.3. Beide Signale sind essenziell für die Initiierung der NLRP3-Inflammasom-Komplexbildung.

Interessanterweise ist die Porenbildung bei dieser Form der Inflammasomaktivierung transient. Das liegt daran, dass parallel zur Aktivierungskaskade ein Reparaturmechanismus durch den ESCRT-III (Endosomal Complexes Required for Transport III)-Komplex (Jimenez et al., 2014; Rühl et al., 2018) initiiert wird. Dadurch werden die GSDMD-Poren aus der Zellmembran entfernt, sodass es – im Gegensatz zur klassischen Inflammasomaktivierung – nicht zur Pyroptose kommt und die Zellen überleben.

Dies ist eine entscheidende Voraussetzung für den sich in der Zirkulation abspielenden Prozess (E-Selektin-vermitteltes Rollen entlang des entzündlich veränderten Endothels), da ein vorzeitiger Zelltod zu diesem Zeitpunkt die Auswanderung von neutrophilen Granulozyten ins Gewebe und Effektorfunktionen im Gewebe unterbinden würde.

Durch diese Arbeit konnten wir nicht nur den aktiven Sezernierungsmechanismus von S100A8/A9 aus neutrophilen Granulozyten entschlüsseln, sondern auch erstmals eine bislang völlig unbekannte Art der NLRP3-Inflammasomaktivierung aufdecken, die sehr schnell abläuft und reversibel ist.

In einer weiteren Studie ist es unserem Labor zudem gelungen, die E-Selektin-vermittelte Inflammasomaktivierung auch in neutrophilen Granulozyten von Neugeborenen zu beschreiben. Wir konnten zeigen, dass dieser Aktivierungsmechanismus bei Neugeborenen weniger stark ausgeprägt ist, was unter anderem durch eine reduzierte Expression von Kv1.3 auf neonatalen neutrophilen Granulozyten erklärt werden kann (Wackerbarth et al., 2024).

5.2 Die Funktion neutrophiler Granulozyten bei Nierendysfunktion (Ma*, Immler* et al. 2022, Blood und Immler*, Lange-Sperandio* et al. 2020, Front. Immunol.)

Zwei weitere Projekte widmeten sich der Funktion neutrophiler Granulozyten im Kontext akuter und chronischer Nierenleiden. Zum einen untersuchte unsere Arbeitsgruppe in Zusammenarbeit mit Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern aus Deutschland und Italien die Auswirkungen hoher Harnsäurespiegel auf die

Funktion neutrophiler Granulozyten. Hohe Harnsäurekonzentrationen im Blutplasma treten insbesondere bei Personen mit verminderter Harnsäureausscheidung (bei ansonsten meist normaler Nierenfunktion) sowie in seltenen Fällen bei Patientinnen und Patienten mit Mutationen in Harnsäuretransportern auf (So & Thorens, 2010). Die erhöhten Werte steigern das Risiko für Gichtarthritis (Martinon et al., 2006), Harnsäurenephropathie (Côté et al., 2020) sowie die Bildung von Harn- und Nierensteinen (Kim et al., 2017). Kristalline Harnsäure hat dabei eine stark proinflammatorische Wirkung (siehe auch MSU-Kristalle bei der Inflammasomaktivierung) (Martinon et al., 2006).

Im Gegensatz dazu gibt es widersprüchliche Befunde hinsichtlich der Wirkung gelöster Harnsäure auf Immunzellen. Einige *in vitro*-Studien zeigen eine proinflammatorische Wirkung von gelöster Harnsäure (Braga et al., 2017), was vermutlich auf die spontane oder unkontrollierte Bildung von Harnsäurekristallen zurückzuführen ist. Gelöste Harnsäure selbst scheint hingegen eine eher antiinflammatorische Wirkung zu besitzen (Ma et al., 2020). Zudem ist bekannt, dass beispielsweise Patientinnen und Patienten mit Niereninsuffizienz, insbesondere Dialysepatienten, ein erhöhtes Risiko für Infektionen haben (Cohen & Hörl, 2012; Rossaint et al., 2011), was auf eine mögliche Unterdrückung der Immunzellreaktion aufgrund hoher Harnsäurespiegel hinweisen könnte. Bislang war unklar, inwieweit neutrophile Granulozyten eine Rolle in diesem Zusammenhang spielen und wie hohe Harnsäurespiegel die Funktion dieser Zellen beeinflussen.

Wir konnten nun nachweisen, dass hohe Harnsäurespiegel die Funktion neutrophiler Granulozyten negativ beeinflussen (Ma et al., 2022). So führten hohe Serumharnsäurekonzentrationen zu einer verringerten Adhäsion neutrophiler Granulozyten an das Endothel im Cremastermuskellmodell der Maus nach MSU-Kristallapplikation (Abbildung 8). Weiter war auch die Auswanderung neutrophiler Granulozyten in das entzündlich veränderte Gewebe und reduziert.

Mechanistisch zeigte sich, dass die Aufnahme von Harnsäure über den Urat-Transporter SLC2A9 zu einer Störung des intrazellulären pH-Werts der Immunzellen führt. Der erniedrigte zytosolische pH-Wert beeinträchtigt das Recycling von β_2 -Integrinen und die Aktindynamik, was sich in reduzierter intravaskulärer Adhäsion, Transmigration und Phagozytoseaktivität widerspiegelte. Andere Effektorfunktionen, wie beispielsweise die Freisetzung von neutrophilen Extrazellulären Fallen (NETs), blieben von diesen Veränderungen jedoch unberührt.

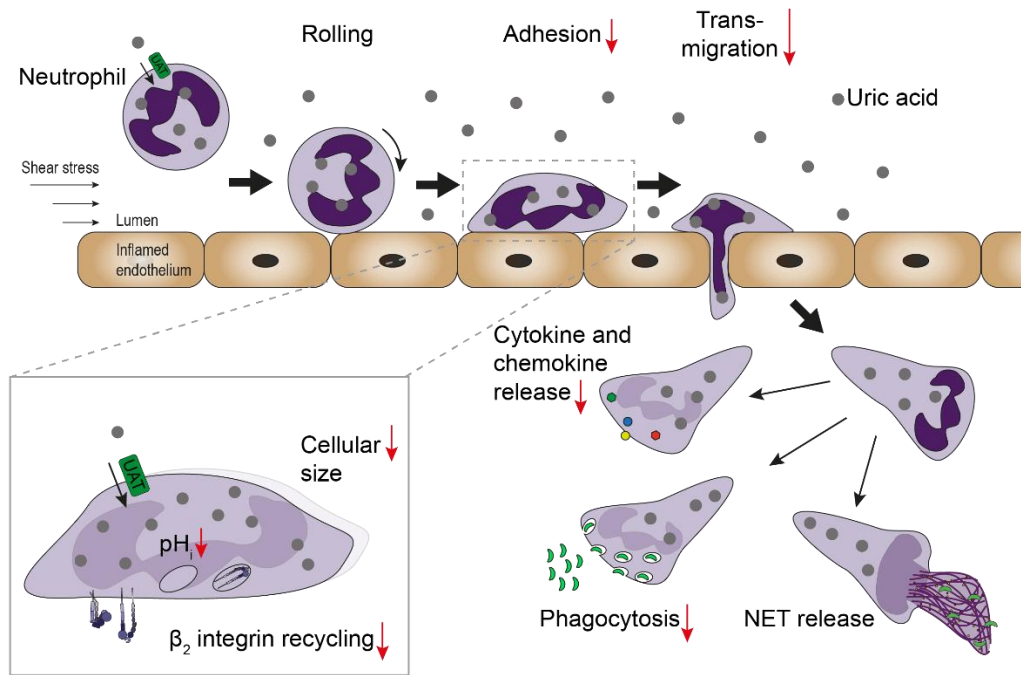


Abbildung 8 Wirkung hoher Serumharnsäurekonzentrationen auf die Funktion neutrophiler Granulozyten. Harnsäure wird über den Urat-Transporter (UAT) SLC2A9 in neutrophilen Granulozyten aufgenommen und verändert das intrazelluläre pH-Milieu. Dies beeinträchtigt das Integrinrecycling und die Aktindynamik, was zu einer reduzierten Adhäsion im Gefäß, einer verminderten Transmigration sowie einer Störung weiterer Effektorfunktionen wie der Phagozytose und der Freisetzung von Zytokinen und Chemokinen führt (rote Pfeile). Modifiziert aus (Ma et al., 2022).

In einer weiteren Studie im Kontext akuter Nierendysfunktion untersuchten wir die Rolle von Uromodulin (*Tamm-Horsfall-Protein*, *THP*) bei der Rekrutierung neutrophiler Granulozyten. Uromodulin ist ein nierenspezifisches, membranständiges Glykoprotein, das unter physiologischen Bedingungen den apikalen Bereich von Tubulsepithelzellen im aufsteigenden Ast der Henle-Schleife auskleidet (Pennica et al., 1987). Es kann durch proteolytische Spaltung in das Lumen abgegeben werden, wo es polymerisiert (pUMOD) und mit 50-150 mg/Tag das am häufigsten vorkommende Protein im Urin darstellt (Devuyst et al., 2017; Santambrogio et al., 2008). Uromodulin spielt eine wichtige Rolle im Wasser- und Elektrolythaushalt und schützt vor bakteriellen Entzündungen im Harntrakt sowie vor der Bildung von Nierensteinen (Devuyst et al., 2017). Zusätzlich wird es in geringerer Menge auch als Monomer nach basolateral (ins Interstitium) abgegeben und ist im Serum nachweisbar (Scherberich et al., 2017).

Unter pathophysiologischen Bedingungen, wie zum Beispiel bei Schädigung des Nierenepithels, können jedoch auch größere Mengen von pUMOD in das umliegende Nierengewebe gelangen. Dabei scheint pUMOD proinflammatorische Eigenschaften zu besitzen, was bereits in *in vitro*-Studien an Monozyten gezeigt wurde (Darisipudi

et al., 2012). Wie pUMOD Immunzellen *in vivo* beeinflusst, insbesondere hinsichtlich der Rekrutierung neutrophiler Granulozyten, war bislang jedoch unbekannt.

In Zusammenarbeit mit Kolleginnen und Kollegen aus Deutschland konnten wir in unserer Studie zeigen, dass interstitiell angereichertes pUMOD als endogenes DAMP-Molekül wirkt und eine Entzündung hervorruft (Immler et al., 2020). Dies geschieht zum einen durch Stimulation gewebständiger Makrophagen, die als Reaktion TNF produzieren und freisetzen, was zur Einwanderung neutrophiler Granulozyten in das betroffene Gewebe führt (Abbildung 9). Zum anderen wirkt pUMOD direkt auf die Endothelzellen postkapillärer Venolen, indem es die Permeabilität der Blutgefäße erhöht und dadurch die Transmigrationskapazität neutrophiler Granulozyten steigert. Interessanterweise hat pUMOD jedoch keine direkte Wirkung auf neutrophile Granulozyten, da es weder chemotaktische Eigenschaften besitzt noch in der Lage ist, $\beta 2$ -Integrine auf diesen Zellen zu aktivieren.

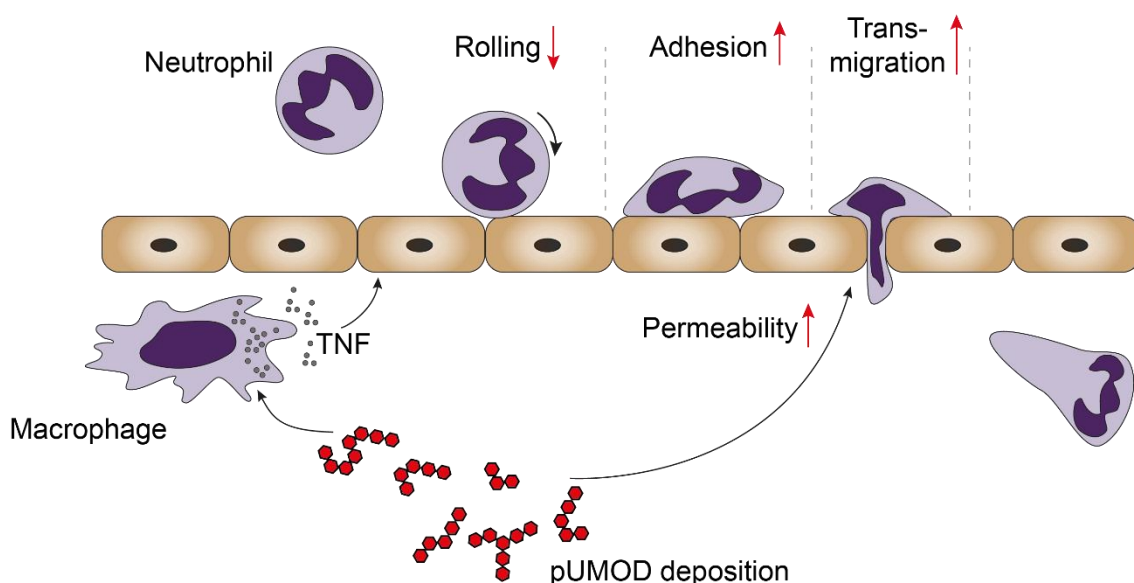


Abbildung 9 Wirkweise von pUMOD auf die Rekrutierung neutrophiler Granulozyten. Interstitiell angereichertes pUMOD stimuliert die Produktion und Freisetzung von TNF aus gewebständigen Makrophagen und führt dadurch zu einer entzündlichen Veränderung des Endothels postkapillärer Venolen. Dies begünstigt die verstärkte Rekrutierung neutrophiler Granulozyten in das betroffene Gewebe. Zusätzlich erhöht pUMOD direkt die Permeabilität der Endothelzellen, was einen weiteren Anstieg der Transmigration neutrophiler Granulozyten begünstigt (rote Pfeile).

Mit Hilfe dieser Arbeiten konnten wir zeigen, wie potentielle Störungen der Nierenfunktion einen unterschiedlichen Einfluss auf die Funktion neutrophiler Granulozyten haben können. Während erhöhte Harnsäurespiegel im Blut Immunzellen, insbesondere neutrophile Granulozyten, in ihrer Funktion hemmen,

kann sezerniertes, polymerisiertes Uromodulin bei akuten Nierenschädigungen zu einer Ausbildung und Verstärkung einer Entzündung führen.

5.3 Die Rolle der Sialyltransferase St3-Gal-IV bei der Rekrutierung eosinophiler Granulozyten (Immler et al. 2024, PNAS)

Ähnlich wie neutrophile Granulozyten werden eosinophile Granulozyten im Knochenmark aus myeloiden Vorläuferzellen gebildet und sukzessive in die Zirkulation abgegeben (Rosenberg et al., 2013). Die Rekrutierung eosinophiler Granulozyten spielt eine zentrale Rolle bei der Bekämpfung von Wurminfektionen sowie in der Pathogenese allergischer Atemwegserkrankungen wie Asthma (Gigon et al., 2023). Neuere Arbeiten zeigen zudem, dass eosinophile Granulozyten wichtige immun-modulatorische Funktionen übernehmen können, indem sie unter anderem allergen-spezifische T-Zellen rekrutieren und an der T-Zellselektion im Thymus beteiligt sind (Jacobsen et al., 2012). Im Gegensatz zu neutrophilen Granulozyten erfolgt das initiale *capturing* und *rolling* eosinophiler Granulozyten hauptsächlich über P-Selektin (auf dem Endothel) und PSGL-1 (auf den Leukozyten) (Patel & McEver, 1997; Sriramarao et al., 1996). Während des Rollens bindet immobilisiertes CCL11 (C-C motif chemokine ligand 11; auch als Eotaxin-1 bekannt) auf dem Endothel an den Chemokinrezeptor CCR3 (C-C motif chemokine receptor 3) auf eosinophilen Granulozyten (Fulkerson et al., 2006) und aktiviert $\alpha_4\beta_1$ -Integrine (*integrin inside-out signaling*). Dieser Prozess ermöglicht die feste Adhäsion der Zellen durch die Bindung der Integrine an endothelial-exprimiertes VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule-1*) (Sriramarao et al., 2000).

Zusammen mit Kolleginnen und Kollegen aus Deutschland und den USA konnte unsere Arbeitsgruppe aufdecken, dass die Sialylierung von CCR3 auf eosinophilen Granulozyten, vermittelt durch die Sialyltransferase St3Gal-IV, eine wichtige Voraussetzung für die Bindung von CCL11 darstellt und somit maßgeblich die Rekrutierung eosinophiler Granulozyten beeinflusst (Abbildung 10) (Immler et al., 2024).

So war in St3Gal-IV-defizienten eosinophilen Granulozyten die Bindung von CCL11 an CCR3 stark vermindert, was zu einer reduzierten Adhäsion der Immunzellen an P-Selektin, VCAM-1 und CCL11-beschichteten Oberflächen in Flusskammerexperimenten führte. Infolgedessen war die CCL11-abhängige

Rekrutierung eosinophiler Granulozyten im Cremastermuskelmodell der Maus nach TNF-Applikation in *St3gal4*^{-/-}-Mäusen ebenso gestört, wie die Rekrutierung eosinophiler Granulozyten in einem Mausmodell für Atemwegserkrankungen (*ovalbumin-induced acute airway disease*). Weiterhin konnten wir zeigen, dass eine Störung der St3Gal-IV-abhängigen Sialylierung von CCR3 die Besiedelung des Thymus und des Fettgewebes mit eosinophilen Granulozyten unter homöostatischen Bedingungen reguliert.

Mit dieser Arbeit konnte unsere Gruppe die bereits beschriebene Bedeutung der St3-Gal-IV-vermittelten Sialylierung für die Rekrutierung neutrophiler Granulozyten (Frommhold et al., 2008; Sperandio et al., 2006) auf die Rekrutierung eosinophiler Granulozyten übertragen und erweitern.

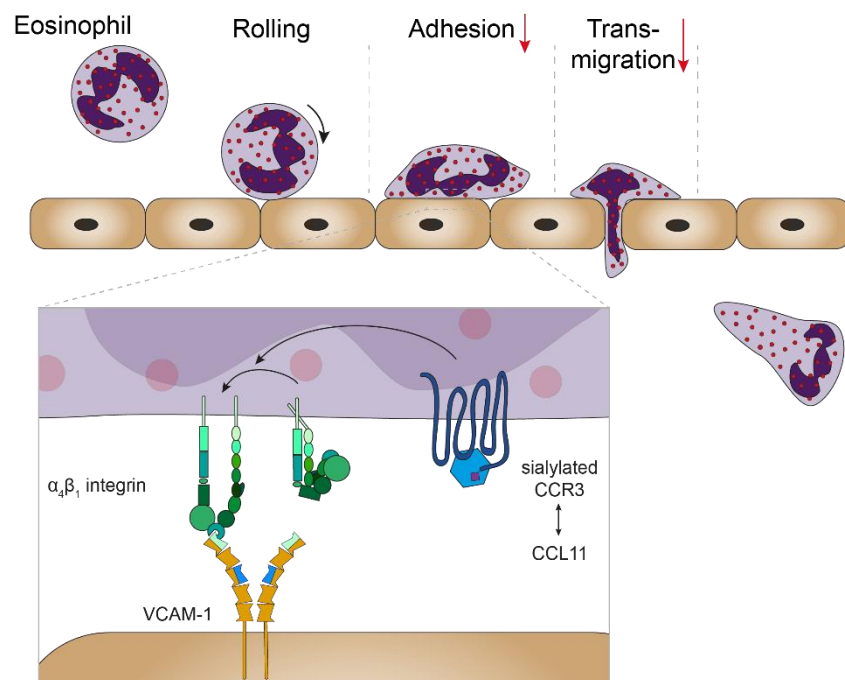


Abbildung 10 Die Rolle der St3-Gal-IV-vermittelten Sialylierung von CCR3 bei der Rekrutierung eosinophiler Granulozyten. Während des P-Selektin-vermittelten Rollens entlang des entzündlich veränderten Endothels kommen eosinophile Granulozyten mit immobilisiertem CCL11 in Kontakt. Die Interaktion von CCL11 mit CCR3 führt zur Aktivierung von $\alpha_4\beta_1$ -Integrinen auf den eosinophilen Granulozyten, wodurch diese an endothelial-exprimiertes VCAM-1 binden und eine feste Adhäsion eingehen können. Eine entscheidende Voraussetzung für die Bindung von CCL11 an CCR3 ist die Sialylierung von CCR3 (violett Quadrat) durch die Sialyltransferase St3Gal-IV. Die genetische Deletion von St3Gal-IV führt zu einer gestörten festen Adhäsion unter Flussbedingungen sowie zu einer verringerten Anzahl ausgewanderter eosinophiler Granulozyten (rote Pfeile).

6. Zusammenfassung und Ausblick

Die Rekrutierung von Leukozyten zum Ort einer Entzündung ist ein stark regulierter Prozess, der von einer Vielzahl von Molekülen und Rezeptor-Liganden-Interaktionen kontrolliert wird (Ley et al., 2007; Maier-Begandt et al., 2024; Schmidt et al., 2013). Obwohl sich die grundlegenden Mechanismen für die verschiedenen Leukozytensubpopulationen stark ähneln, weist ihre Rekrutierung - wie auch in dieser Habilitationsschrift dargelegt - spezifische Unterschiede auf. Ein vertieftes Verständnis des zellspezifischen Rekrutierungsverhaltens und der daran beteiligten Signaltransduktionskaskaden bietet somit einen potenziellen therapeutischen Ansatz für die Behandlung akut und chronisch entzündlicher Erkrankungen.

Unsere Arbeit zu eosinophilen Granulozyten hat gezeigt, dass die Sialylierung des Chemokinrezeptors CCR3 eine wesentliche Voraussetzung für die Bindung von CCL11 sowie die Aktivierung und Rekrutierung dieser Immunzellen darstellt (Immler et al., 2024).

Weiterhin konnten wir aufzeigen, dass verschiedene Störungen der Nierenfunktion unterschiedliche Auswirkungen auf die Funktion neutrophiler Granulozyten haben. Hohe Serumharnsäurespiegel beeinflussen das intrazelluläre pH-Milieu und hemmen damit wichtige intrazelluläre Prozesse wie das Integrinrecycling und die Dynamik des Aktinzytoskeletts (Ma et al., 2022). Im Gegensatz dazu führt die interstitielle Ablagerung von pUMOD zu einer verstärkten Rekrutierung neutrophiler Granulozyten, bedingt durch die direkte Wirkung von pUMOD auf gewebsständige Makrophagen und auf die Endothelzellen postkapillärer Venolen (Immler et al., 2020).

Unsere Untersuchungen zur Rolle von Kv1.3 in neutrophilen Granulozyten – die zeigen, dass dieser Kanal an der Regulation der festen Adhäsion, der Phagozytoseaktivität und der Freisetzung von S100A8/A9 beteiligt ist (Immler et al., 2022; Pruenster et al., 2023) – erweitern das mögliche Anwendungsspektrum von Kv1.3-Inhibitoren auf akute und chronische entzündliche Erkrankungen, bei denen neutrophile Granulozyten eine Rolle spielen. Darüber hinaus unterstreichen unsere Befunde die häufig unterschätzte Bedeutung neutrophiler Granulozyten bei Erkrankungen, die traditionell als T-Zell-vermittelt gelten. Der Kv1.3-Inhibitor *Dalazatide* (ShK-186) zeigte in einer Phase I-Studie bei Patientinnen und Patienten mit Psoriasis (Identifizier: NCT02435342) eine klinisch relevante Wirksamkeit, bei gleichzeitig guter Verträglichkeit (Tarcha et al., 2017). Interessanterweise ist die

kontinuierliche Rekrutierung neutrophiler Granulozyten in das betroffene Gewebe ein zentrales pathophysiologisches Merkmal dieser Autoimmunerkrankung (Katayama, 2018; Németh et al., 2020). Vor dem Hintergrund unserer Ergebnisse zur Funktion von Kv1.3 in neutrophilen Granulozyten erscheint es daher plausibel, dass ein Teil der therapeutischen Wirkung von *Dalazatide* auf die Hemmung der Aktivität dieser Zellen zurückzuführen ist.

In einem weiterführenden Projekt, das kurz vor Abschluss steht, untersuchen wir aktuell die Wirkung des schwangerschaftsspezifischen Peptids *Preimplantation factor* (PIF) auf die Funktion neutrophiler Granulozyten. PIF ist ein 15 Aminosäuren langes Peptid, das von extra-embryonalem Gewebe der Plazenta (Trophoblastenzellen) produziert wird (Barnea, 2007; Moindjie et al., 2014) und während der gesamten Schwangerschaft in der maternalen Zirkulation nachweisbar ist (Stamatkin et al., 2011; Tzonis et al., 2010). Obwohl die immunmodulatorische Wirkung von PIF bereits in Tiermodellen für Autoimmunerkrankungen nachgewiesen wurde (Weiss et al., 2011; Weiss et al., 2012), sind die molekularen Mechanismen seiner Wirkung bislang weitgehend unbekannt.

Die Daten der Studie, die im Rahmen des Transregio-Forschungsbereichs 359 (TRR359), PILOT ('Perinatale Entwicklung der Topologie der Immunzellen') von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) gefördert wird, zeigen, dass PIF als endogener Inhibitor von Kv1.3 wirkt und über diesen Weg die Funktion neutrophiler Granulozyten beeinflusst. In Übereinstimmung mit unseren früheren Arbeiten zur Funktionsweise von Kv1.3 in neutrophilen Granulozyten (Immler et al., 2022; Pruenster et al., 2023), beeinflusst auch PIF das *sustained Ca²⁺ signaling* und reduziert so die feste Adhäsion sowie *post-arrest modifications* unter Flussbedingungen *in vivo* und *in vitro*. Nach Injektion von PIF konnte im TNF-stimulierten Cremastermuskel der Maus eine verminderte Adhäsion neutrophiler Granulozyten an das entzündlich veränderte Endothel beobachtet werden. Interessanterweise war auch die Adhäsion neutrophiler Granulozyten in TNF-stimulierten postkapillären Venolen des Mesenteriums schwangerer Mäuse reduziert. Durch Flusskammerexperimente und den Einsatz gegen PIF gerichteter Antikörper konnten wir diesen Adhäsionsdefekt auf PIF im Serum schwangerer Mäuse zurückführen. Darüber hinaus beeinträchtigt PIF – analog zu etablierten

Kv1.3-Inhibitoren - die Phagozytoseaktivität neutrophiler Granulozyten und hemmt die schnelle NLRP3-Inflammasom-vermittelte Freisetzung von S100A8/A9.

In einem weiteren Projekt untersuchen wir derzeit, inwieweit der von uns beschriebene Freisetzungsmechanismus von S100A8/A9 aus neutrophilen Granulozyten über NLRP3-Inflammasom-gebildete GSDMD-Poren (Pruenster et al., 2023) auch auf Monozyten übertragbar ist. Wie bereits erwähnt, exprimieren auch Monozyten als Vertreter myeloider Immunzellen, S100A8/A9, wenn auch in geringerer Menge als neutrophile Granulozyten (Pruenster et al., 2016). Der genaue Mechanismus, wie diese Zellen S100A8/A9 aktiv sezernieren, wurde bislang nicht untersucht.

Erste Ergebnisse deuten darauf hin, dass E-Selektin auch bei Monozyten das NLRP3-Inflammasom aktiviert und es innerhalb weniger Minuten zur Freisetzung von S100A8/A9 kommt. Im Gegensatz zu neutrophilen Granulozyten führt die kontinuierliche Stimulation mit E-Selektin über einen längeren Zeitraum (1h) bei Monozyten aber zu erhöhten S100A8/A9-Konzentrationen in den Zellüberständen. Zwar konnten wir auch hier die Aktivierung des ESCRT-III-Membranreparaturmechanismus als Reaktion auf die Stimulation mit E-Selektin beobachten. Warum dies jedoch nicht wie bei neutrophilen Granulozyten zu einer Unterbindung der S100A8/A9-Freisetzung führt, ist zum jetzigen Zeitpunkt noch unklar. Auch die Rolle von Kv1.3 bei der E-Selektin-vermittelten NLRP3-Inflammasomaktivierung ist Gegenstand aktueller Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe. Es scheint jedoch, dass die NLRP3-Inflammasom-vermittelte S100A8/A9-Freisetzung in Monozyten trotz der Ähnlichkeiten zu den Mechanismen in neutrophilen Granulozyten unterschiedlich reguliert ist.

Das vertiefte Verständnis zellspezifischer Unterschiede (ebenso wie Gemeinsamkeiten) bei der Rekrutierung von Leukozyten aus dem Blutstrom in entzündetes Gewebe soll dazu beitragen, die Mechanismen akuter und chronischer Entzündungsvorgänge besser zu verstehen und gezielte Interventionsstrategien zu entwickeln. Auf diese Weise könnten neue therapeutische Ansätze zur Behandlung gesellschaftlich relevanter Erkrankungen wie Atherosklerose, Typ-2-Diabetes mellitus oder Adipositas ermöglicht werden. Die in dieser Habilitationsschrift zusammengefassten Arbeiten sollen hierzu einen kleinen, aber hoffentlich wertvollen Beitrag leisten.

7. Literaturverzeichnis

- Barnea, E. R. (2007). Applying Embryo-Derived Immune Tolerance to the Treatment of Immune Disorders. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1110(1), 602-618. <https://doi.org/https://doi.org/10.1196/annals.1423.064>
- Beeton, C., Wulff, H., Barbaria, J., Clot-Faybesse, O., Pennington, M., Bernard, D., Cahalan, M. D., Chandy, K. G., & Béraud, E. (2001). Selective blockade of T lymphocyte K⁺ channels ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis, a model for multiple sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(24), 13942-13947. <https://doi.org/doi:10.1073/pnas.241497298>
- Beeton, C., Wulff, H., Standifer, N. E., Azam, P., Mullen, K. M., Pennington, M. W., Kolski-Andreaco, A., Wei, E., Grino, A., Counts, D. R., Wang, P. H., LeeHealey, C. J., S. Andrews, B., Sankaranarayanan, A., Homerick, D., Roeck, W. W., Tehranzadeh, J., Stanhope, K. L., Zimin, P., Havel, P. J., Griffey, S., Knaus, H.-G., Nepom, G. T., Gutman, G. A., Calabresi, P. A., & Chandy, K. G. (2006). Kv1.3 channels are a therapeutic target for T cell-mediated autoimmune diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(46), 17414-17419. <https://doi.org/doi:10.1073/pnas.0605136103>
- Braga, T. T., Forni, M. F., Correa-Costa, M., Ramos, R. N., Barbuto, J. A., Branco, P., Castoldi, A., Hiyane, M. I., Davanzo, M. R., Latz, E., Franklin, B. S., Kowaltowski, A. J., & Camara, N. O. S. (2017, 2017/01/13). Soluble Uric Acid Activates the NLRP3 Inflammasome. *Scientific Reports*, 7(1), 39884. <https://doi.org/10.1038/srep39884>
- Chandy, K. G., & Norton, R. S. (2017, 2017/06/01/). Peptide blockers of Kv1.3 channels in T cells as therapeutics for autoimmune disease. *Current Opinion in Chemical Biology*, 38, 97-107. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2017.02.015>
- Clemens, R. A., & Lowell, C. A. (2019, 2019/03/01/). CRAC channel regulation of innate immune cells in health and disease. *Cell Calcium*, 78, 56-65. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ceca.2019.01.003>
- Cohen, G., & Hörl, W. H. (2012). Immune Dysfunction in Uremia—An Update. *Toxins*, 4(11), 962-990. <https://www.mdpi.com/2072-6651/4/11/962>
- Côté, J. M., Bérubé, A.-A., & Bollée, G. (2020). Association of Hyperuricemia With Acute Kidney Injury: Case Series Report Among Patients Hospitalized With General Tonic-Clonic Seizures. *Canadian Journal of Kidney Health and Disease*, 7, 2054358120977386. <https://doi.org/10.1177/2054358120977386>
- Darisipudi, M. N., Thomasova, D., Mulay, S. R., Brech, D., Noessner, E., Liapis, H., & Anders, H.-J. (2012). Uromodulin Triggers IL-1 β -Dependent Innate Immunity via the NLRP3 Inflammasome. *Journal of the American Society of Nephrology*, 23(11), 1783-1789. <https://doi.org/10.1681/asn.2012040338>
- Devarajan, P., & Chen, Z. (2013, 2013/12/01). Autoimmune effector memory T cells: the bad and the good. *Immunologic Research*, 57(1), 12-22. <https://doi.org/10.1007/s12026-013-8448-1>
- Devuyst, O., Olinger, E., & Rampoldi, L. (2017, 2017/09/01). Uromodulin: from physiology to rare and complex kidney disorders. *Nature Reviews Nephrology*, 13(9), 525-544. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2017.101>

- Dixit, N., & Simon, S. I. (2012, 2012-July-10). Chemokines, selectins and intracellular calcium flux: temporal and spatial cues for leukocyte arrest [Review]. *Frontiers in Immunology*, 3. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00188>
- Feske, S., Wulff, H., & Skolnik, E. Y. (2015). Ion Channels in Innate and Adaptive Immunity. *Annual Review of Immunology*, 33(Volume 33, 2015), 291-353. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112212>
- Frommhold, D., Ludwig, A., Bixel, M. G., Zarbock, A., Babushkina, I., Weissinger, M., Cauwenberghs, S., Ellies, L. G., Marth, J. D., Beck-Sickinger, A. G., Sixt, M., Lange-Sperandio, B. r., Zerneck, A., Brandt, E., Weber, C., Vestweber, D., Ley, K., & Sperandio, M. (2008). Sialyltransferase ST3Gal-IV controls CXCR2-mediated firm leukocyte arrest during inflammation. *Journal of Experimental Medicine*, 205(6), 1435-1446. <https://doi.org/10.1084/jem.20070846>
- Fulkerson, P. C., Fischetti, C. A., McBride, M. L., Hassman, L. M., Hogan, S. P., & Rothenberg, M. E. (2006). A central regulatory role for eosinophils and the eotaxin/CCR3 axis in chronic experimental allergic airway inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(44), 16418-16423. <https://doi.org/doi:10.1073/pnas.0607863103>
- Gigon, L., Fettelet, T., Yousefi, S., Simon, D., & Simon, H.-U. (2023). Eosinophils from A to Z. *Allergy*, 78(7), 1810-1846. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/all.15751>
- He, W.-t., Wan, H., Hu, L., Chen, P., Wang, X., Huang, Z., Yang, Z.-H., Zhong, C.-Q., & Han, J. (2015, 2015/12/01). Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 β secretion. *Cell Research*, 25(12), 1285-1298. <https://doi.org/10.1038/cr.2015.139>
- Honda, T. S. B., Ku, J., & Anders, H.-J. (2023, 2023-July-25). Cell type-specific roles of NLRP3, inflammasome-dependent and -independent, in host defense, sterile necroinflammation, tissue repair, and fibrosis [Review]. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1214289>
- Immler, R., Lange-Sperandio, B., Steffen, T., Beck, H., Rohwedder, I., Roth, J., Napoli, M., Hupel, G., Pfister, F., Popper, B., Uhl, B., Mannell, H., Reichel, C. A., Vielhauer, V., Scherberich, J., Sperandio, M., & Pruenster, M. (2020, 2020-December-22). Extratubular Polymerized Uromodulin Induces Leukocyte Recruitment and Inflammation In Vivo [Original Research]. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.588245>
- Immler, R., Nadolni, W., Bertsch, A., Morikis, V., Rohwedder, I., Masgrau-Alsina, S., Schroll, T., Yevtushenko, A., Soehnlein, O., Moser, M., Gudermann, T., Barnea, E. R., Rehberg, M., Simon, S. I., Zierler, S., Pruenster, M., & Sperandio, M. (2022). The voltage-gated potassium channel KV1.3 regulates neutrophil recruitment during inflammation. *Cardiovascular Research*, 118(5), 1289-1302. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvab133>
- Immler, R., Nussbaumer, K., Doerner, A., El Bounkari, O., Huber, S., Abisch, J., Napoli, M., Schmidt, S., Margraf, A., Pruenster, M., Rohwedder, I., Lange-Sperandio, B., Mall, M. A., de Jong, R., Ohnmacht, C., Bernhagen, J., Voehringer, D., Marth, J. D., Frommhold, D., & Sperandio, M. (2024). CCR3-dependent eosinophil recruitment is regulated by sialyltransferase ST3Gal-IV. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 121(19), e2319057121. <https://doi.org/doi:10.1073/pnas.2319057121>

- Immler, R., Simon, S. I., & Sperandio, M. (2018). Calcium signalling and related ion channels in neutrophil recruitment and function. *European Journal of Clinical Investigation*, 48(S2), e12964. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/eci.12964>
- Immler, R. T. (2019). *The role of Preimplantation Factor (PIF) on leukocyte recruitment in vivo* [Dissertation, LMU München, <http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:bvb:19-250798>]
- Jacobsen, E. A., Helmers, R. A., Lee, J. J., & Lee, N. A. (2012). The expanding role(s) of eosinophils in health and disease. *Blood*, 120(19), 3882-3890. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-06-330845>
- Jimenez, A. J., Maiuri, P., Lafaurie-Janvore, J., Divoux, S., Piel, M., & Perez, F. (2014). ESCRT Machinery Is Required for Plasma Membrane Repair. *Science*, 343(6174), 1247136. <https://doi.org/doi:10.1126/science.1247136>
- Katayama, H. (2018). Development of psoriasis by continuous neutrophil infiltration into the epidermis. *Experimental Dermatology*, 27(10), 1084-1091. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/exd.13746>
- Kim, S., Chang, Y., Yun, K. E., Jung, H.-S., Lee, S.-J., Shin, H., & Ryu, S. (2017). Development of Nephrolithiasis in Asymptomatic Hyperuricemia: A Cohort Study. *American Journal of Kidney Diseases*, 70(2), 173-181. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2017.01.053>
- Kolaczowska, E., & Kubes, P. (2013, 2013/03/01). Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 13(3), 159-175. <https://doi.org/10.1038/nri3399>
- Krause, K. H., & Welsh, M. J. (1990, 02/01/). Voltage-dependent and Ca²⁺-activated ion channels in human neutrophils. *The Journal of Clinical Investigation*, 85(2), 491-498. <https://doi.org/10.1172/JCI114464>
- Kundu-Raychaudhuri, S., Chen, Y.-J., Wulff, H., & Raychaudhuri, S. P. (2014, 2014/12/01/). Kv1.3 in psoriatic disease: PAP-1, a small molecule inhibitor of Kv1.3 is effective in the SCID mouse psoriasis – Xenograft model. *Journal of Autoimmunity*, 55, 63-72. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jaut.2014.07.003>
- Kurz, A. R. M., Pruenster, M., Rohwedder, I., Ramadass, M., Schäfer, K., Harrison, U., Gouveia, G., Nussbaum, C., Immler, R., Wiessner, J. R., Margraf, A., Lim, D.-S., Walzog, B., Dietzel, S., Moser, M., Klein, C., Vestweber, D., Haas, R., Catz, S. D., & Sperandio, M. (2016, 11/01/). MST1-dependent vesicle trafficking regulates neutrophil transmigration through the vascular basement membrane. *The Journal of Clinical Investigation*, 126(11), 4125-4139. <https://doi.org/10.1172/JCI87043>
- Lara-Reyna, S., Caseley, E. A., Topping, J., Rodrigues, F., Jimenez Macias, J., Lawler, S. E., & McDermott, M. F. (2022). Inflammasome activation: from molecular mechanisms to autoinflammation. *Clinical & Translational Immunology*, 11(7), e1404. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cti2.1404>
- Lee, A., Fakler, B., Kaczmarek, L. K., & Isom, L. L. (2014). More Than a Pore: Ion Channel Signaling Complexes. *The Journal of Neuroscience*, 34(46), 15159-15169. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.3275-14.2014>

- Ley, K., Laudanna, C., Cybulsky, M. I., & Nourshargh, S. (2007, 2007/09/01). Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nature Reviews Immunology*, 7(9), 678-689. <https://doi.org/10.1038/nri2156>
- Ma, Q., Honarpisheh, M., Li, C., Sellmayr, M., Lindenmeyer, M., Böhländ, C., Romagnani, P., Anders, H.-J., & Steiger, S. (2020). Soluble Uric Acid Is an Intrinsic Negative Regulator of Monocyte Activation in Monosodium Urate Crystal-Induced Tissue Inflammation. *The Journal of Immunology*, 205(3), 789-800. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2000319>
- Ma, Q., Immler, R., Pruenster, M., Sellmayr, M., Li, C., von Brunn, A., von Brunn, B., Ehmann, R., Wölfel, R., Napoli, M., Li, Q., Romagnani, P., Böttcher, R. T., Sperandio, M., Anders, H.-J., & Steiger, S. (2022). Soluble uric acid inhibits β 2 integrin-mediated neutrophil recruitment in innate immunity. *Blood*, 139(23), 3402-3417. <https://doi.org/10.1182/blood.2021011234>
- Maier-Begandt, D., Alonso-Gonzalez, N., Klotz, L., Erpenbeck, L., Jablonska, J., Immler, R., Hasenberg, A., Mueller, T. T., Herrero-Cervera, A., Aranda-Pardos, I., Flora, K., Zarbock, A., Brandau, S., Schulz, C., Soehnlein, O., & Steiger, S. (2024, Sep 27). Neutrophils-biology and diversity. *Nephrol Dial Transplant*, 39(10), 1551-1564. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfad266>
- Martinon, F., Pétrilli, V., Mayor, A., Tardivel, A., & Tschopp, J. (2006, 2006/03/01). Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature*, 440(7081), 237-241. <https://doi.org/10.1038/nature04516>
- Mócsai, A., Walzog, B., & Lowell, C. A. (2015). Intracellular signalling during neutrophil recruitment. *Cardiovascular Research*, 107(3), 373-385. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvv159>
- Moindjie, H., Santos, E. D., Loeuillet, L., Gronier, H., de Mazancourt, P., Barnea, E. R., Vialard, F., & Dieudonne, M.-N. (2014). Preimplantation Factor (PIF) Promotes Human Trophoblast Invasion. *Biology of Reproduction*, 91(5). <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.119156>
- Morikis, V. A., Chase, S., Wun, T., Chaikof, E. L., Magnani, J. L., & Simon, S. I. (2017). Selectin catch-bonds mechanotransduce integrin activation and neutrophil arrest on inflamed endothelium under shear flow. *Blood*, 130(19), 2101-2110. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-05-783027>
- Morikis, V. A., & Simon, S. I. (2018, 2018-November-28). Neutrophil Mechanosignaling Promotes Integrin Engagement With Endothelial Cells and Motility Within Inflamed Vessels [Review]. *Frontiers in Immunology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02774>
- Muñoz-Planillo, R., Kuffa, P., Martínez-Colón, G., Smith, Brenna L., Rajendiran, Thekkelnaycke M., & Núñez, G. (2013). K⁺ Efflux Is the Common Trigger of NLRP3 Inflammasome Activation by Bacterial Toxins and Particulate Matter. *Immunity*, 38(6), 1142-1153. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.05.016>
- Napoli, M., Immler, R., Rohwedder, I., Lupperger, V., Pfabe, J., Gonzalez Pisfil, M., Yevtushenko, A., Vogl, T., Roth, J., Salvermoser, M., Dietzel, S., Slak Rupnik, M., Marr, C., Walzog, B., Sperandio, M., & Pruenster, M. (2024, 2024/06/18). Cytosolic S100A8/A9 promotes Ca²⁺ supply at LFA-1 adhesion clusters during neutrophil recruitment. *eLife*, 13, RP96810. <https://doi.org/10.7554/elife.96810.1>

- Németh, T., Sperandio, M., & Mócsai, A. (2020, 2020/04/01). Neutrophils as emerging therapeutic targets. *Nature Reviews Drug Discovery*, 19(4), 253-275. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0054-z>
- Patel, K. D., & McEver, R. P. (1997). Comparison of tethering and rolling of eosinophils and neutrophils through selectins and P-selectin glycoprotein ligand-1. *The Journal of Immunology*, 159(9), 4555-4565. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.159.9.4555>
- Pennica, D., Kohr, W. J., Kuang, W.-J., Glaister, D., Aggarwal, B. B., Chen, E. Y., & Goeddel, D. V. (1987). Identification of Human Uromodulin as the Tamm-Horsfall Urinary Glycoprotein. *Science*, 236(4797), 83-88. <https://doi.org/doi:10.1126/science.3453112>
- Pérez-García, M. T., Ciudad, P., & López-López, J. R. (2018). The secret life of ion channels: Kv1.3 potassium channels and proliferation. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 314(1), C27-C42. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00136.2017>
- Pongs, O., & Schwarz, J. R. (2010). Ancillary Subunits Associated With Voltage-Dependent K⁺ Channels. *Physiological Reviews*, 90(2), 755-796. <https://doi.org/10.1152/physrev.00020.2009>
- Pruenster, M., Immler, R., Roth, J., Kuchler, T., Bromberger, T., Napoli, M., Nussbaumer, K., Rohwedder, I., Wackerbarth, L. M., Piantoni, C., Hennis, K., Fink, D., Kallabis, S., Schroll, T., Masgrau-Alsina, S., Budke, A., Liu, W., Vestweber, D., Wahl-Schott, C., Roth, J., Meissner, F., Moser, M., Vogl, T., Hornung, V., Broz, P., & Sperandio, M. (2023, 2023/10/30). E-selectin-mediated rapid NLRP3 inflammasome activation regulates S100A8/S100A9 release from neutrophils via transient gasdermin D pore formation. *Nature Immunology*. <https://doi.org/10.1038/s41590-023-01656-1>
- Pruenster, M., Kurz, A. R. M., Chung, K.-J., Cao-Ehlker, X., Bieber, S., Nussbaum, C. F., Bierschenk, S., Eggersmann, T. K., Rohwedder, I., Heinig, K., Immler, R., Moser, M., Koedel, U., Gran, S., McEver, R. P., Vestweber, D., Verschoor, A., Leanderson, T., Chavakis, T., Roth, J., Vogl, T., & Sperandio, M. (2015, 2015/04/20). Extracellular MRP8/14 is a regulator of β 2 integrin-dependent neutrophil slow rolling and adhesion. *Nature Communications*, 6(1), 6915. <https://doi.org/10.1038/ncomms7915>
- Pruenster, M., Vogl, T., Roth, J., & Sperandio, M. (2016, 2016/11/01/). S100A8/A9: From basic science to clinical application. *Pharmacology & Therapeutics*, 167, 120-131. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.07.015>
- Rohwedder, I., Kurz, A., R. M., Pruenster, M., Immler, R., Pick, R., Eggersmann, T., Klapproth, S., Johnson, J., L., Masgrau Alsina, S., Lowell, C., A., Mócsai, A., Catz, S., D., & Sperandio, M. (2020, 07/01). Src family kinase-mediated vesicle trafficking is critical for neutrophil basement membrane penetration. *Haematologica*, 105(7), 1845-1856. <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.225722>
- Rosenberg, H. F., Dyer, K. D., & Foster, P. S. (2013, 2013/01/01). Eosinophils: changing perspectives in health and disease. *Nature Reviews Immunology*, 13(1), 9-22. <https://doi.org/10.1038/nri3341>
- Rossaint, J., Spelten, O., Kässens, N., Mueller, H., Van Aken, H. K., Singbartl, K., & Zarbock, A. (2011). Acute loss of renal function attenuates slow leukocyte rolling and transmigration by interfering with intracellular signaling. *Kidney International*, 80(5), 493-503. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.125>

- Rühl, S., Shkarina, K., Demarco, B., Heilig, R., Santos, J. C., & Broz, P. (2018). ESCRT-dependent membrane repair negatively regulates pyroptosis downstream of GSDMD activation. *Science*, 362(6417), 956-960. <https://doi.org/doi:10.1126/science.aar7607>
- Santambrogio, S., Cattaneo, A., Bernascone, I., Schwend, T., Jovine, L., Bachi, A., & Rampoldi, L. (2008, 2008/06/06/). Urinary uromodulin carries an intact ZP domain generated by a conserved C-terminal proteolytic cleavage. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 370(3), 410-413. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.03.099>
- Sarkar, S., Nguyen, H. M., Malovic, E., Luo, J., Langley, M., Palanisamy, B. N., Singh, N., Manne, S., Neal, M., Gabrielle, M., Abdalla, A., Anantharam, P., Rokad, D., Panicker, N., Singh, V., Ay, M., Charli, A., Harischandra, D., Jin, L.-W., Jin, H., Rangaraju, S., Anantharam, V., Wulff, H., & Kanthasamy, A. G. (2020, 08/03/). Kv1.3 modulates neuroinflammation and neurodegeneration in Parkinson's disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 130(8), 4195-4212. <https://doi.org/10.1172/JCI136174>
- Scherberich, J. E., Gruber, R., Nockher, W. A., Christensen, E. I., Schmitt, H., Herbst, V., Block, M., Kaden, J., & Schlumberger, W. (2017). Serum uromodulin—a marker of kidney function and renal parenchymal integrity. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 33(2), 284-295. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfw422>
- Schmidt, S., Moser, M., & Sperandio, M. (2013, 2013/08/01/). The molecular basis of leukocyte recruitment and its deficiencies. *Molecular Immunology*, 55(1), 49-58. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.molimm.2012.11.006>
- Smith, M. L., Olson, T. S., & Ley, K. (2004). CXCR2- and E-Selectin-induced Neutrophil Arrest during Inflammation In Vivo. *Journal of Experimental Medicine*, 200(7), 935-939. <https://doi.org/10.1084/jem.20040424>
- So, A., & Thorens, B. (2010, 06/01/). Uric acid transport and disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(6), 1791-1799. <https://doi.org/10.1172/JCI42344>
- Sperandio, M., Frommhold, D., Babushkina, I., Ellies, L. G., Olson, T. S., Smith, M. L., Fritsching, B., Pauly, E., Smith, D. F., Nobiling, R., Linderkamp, O., Marth, J. D., & Ley, K. (2006). α 2,3-Sialyltransferase-IV is essential for L-selectin ligand function in inflammation. *European Journal of Immunology*, 36(12), 3207-3215. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/eji.200636157>
- Sriramarao, P., DiScipio, R. G., Cobb, R. R., Cybulsky, M., Stachnick, G., Castaneda, D., Elices, M., & Broide, D. H. (2000, 2000/01/15/). VCAM-1 is more effective than MAdCAM-1 in supporting eosinophil rolling under conditions of shear flow. *Blood*, 95(2), 592-601. <https://doi.org/https://doi.org/10.1182/blood.V95.2.592>
- Sriramarao, P., Norton, C. R., Borgstrom, P., DiScipio, R. G., Wolitzky, B. A., & Broide, D. H. (1996). E-selectin preferentially supports neutrophil but not eosinophil rolling under conditions of flow in vitro and in vivo. *The Journal of Immunology*, 157(10), 4672-4680. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.157.10.4672>
- Stamatkin, C. W., Roussev, R. G., Stout, M., Absalon-Medina, V., Ramu, S., Goodman, C., Coulam, C. B., Gilbert, R. O., Godke, R. A., & Barnea, E. R. (2011, 2011/05/15). Preimplantation Factor (PIF) correlates with early mammalian embryo development-bovine and murine models. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 9(1), 63. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-63>

- Swanson, K. V., Deng, M., & Ting, J. P. Y. (2019, 2019/08/01). The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics. *Nature Reviews Immunology*, 19(8), 477-489. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0165-0>
- Tarcha, E. J., Olsen, C. M., Probst, P., Peckham, D., Muñoz-Elías, E. J., Kruger, J. G., & Iadonato, S. P. (2017). Safety and pharmacodynamics of dalazatide, a Kv1.3 channel inhibitor, in the treatment of plaque psoriasis: A randomized phase 1b trial. *PLOS ONE*, 12(7), e0180762. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180762>
- Taylor, K. A., & Mahaut-Smith, M. P. (2021, 2021/10/03). Ion channels and ion homeostasis in the platelet and megakaryocyte. *Platelets*, 32(7), 853-854. <https://doi.org/10.1080/09537104.2021.1964866>
- Tinoco, R., Otero, D. C., Takahashi, A. A., & Bradley, L. M. (2017, 2017/05/01). PSGL-1: A New Player in the Immune Checkpoint Landscape. *Trends in Immunology*, 38(5), 323-335. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.it.2017.02.002>
- Tzonis, P., Moschandreou, D., Keramitsoglou, T., Perros, G., Farmakidis, G., Varla-Leftherioti, M., & Barnea, E. R. (2010, 2010/08/01). Kinetics of circulating preimplantation factor (PIF) levels during pregnancy. *Journal of Reproductive Immunology*, 86(1), 42. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jri.2010.06.082>
- Vestweber, D. (2015, 2015/11/01). How leukocytes cross the vascular endothelium. *Nature Reviews Immunology*, 15(11), 692-704. <https://doi.org/10.1038/nri3908>
- Wackerbarth, L. M., Seifert, S. B., Napoli, M., Rohwedder, I., Vogl, T., Scheiermann, C., Kolben, T., Nussbaum, C., Pruenster, M., Immler, R., & Sperandio, M. (2024). Neonatal neutrophils exhibit reduced NLRP3 inflammasome activation. *Journal of Leukocyte Biology*. <https://doi.org/10.1093/jleuko/qiae206>
- Weiss, L., Bernstein, S., Jones, R., Amunugama, R., Krizman, D., JeBailey, L., Hazan, O., Yachtin, J., Shiner, R., Reibstein, I., Triche, E., Slavin, S., Or, R., & Barnea, E. R. (2011, 2011/08/01). Preimplantation factor (PIF) analog prevents type I diabetes mellitus (T1DM) development by preserving pancreatic function in NOD mice. *Endocrine*, 40(1), 41-54. <https://doi.org/10.1007/s12020-011-9438-5>
- Weiss, L., Or, R., Jones, R. C., Amunugama, R., JeBailey, L., Ramu, S., Bernstein, S. A., Yekhtin, Z., Almogi-Hazan, O., Shainer, R., Reibstein, I., Vortmeyer, A. O., Paidas, M. J., Zeira, M., Slavin, S., & Barnea, E. R. (2012, 2012/01/15). Preimplantation Factor (PIF*) reverses neuroinflammation while promoting neural repair in EAE model. *Journal of the Neurological Sciences*, 312(1), 146-157. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jns.2011.07.050>
- Wulff, H., Calabresi, P. A., Allie, R., Yun, S., Pennington, M., Beeton, C., & Chandy, K. G. (2003, 06/01). The voltage-gated Kv1.3 K⁺ channel in effector memory T cells as new target for MS. *The Journal of Clinical Investigation*, 111(11), 1703-1713. <https://doi.org/10.1172/JCI16921>
- Zhang, T., Liu, Q., Li, Z., Tang, S., An, Q., Fan, D., Xiang, Y., Wu, X., Jin, Z., Ding, J., Hu, Y., Du, Q., Xu, J., & Xie, R. (2023, 2023/01/01). The role of ion channels in immune-related diseases. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 177, 129-140. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2022.11.003>

8. Abkürzungsverzeichnis

ASC	apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD
ATP	Adenosintriphosphat
Btk	Bruton's Tyrosine Kinase
Ca ²⁺	Kalziumionen
[Ca ²⁺] _i	intrazelluläre Ca ²⁺ -Konzentration
CCL11	C-C motif chemokine ligand 11
CCR3	C-C motif chemokinereceptor 3
CRAC	Calcium-release activated calcium
CXCL1	C-X-C motif chemokine ligand 1
CXCR2	C-X-C motif chemokine receptor 2
DAG	Diacylglycerin
DAMPs	Damage associated molecular patterns
DCs	dendritische Zellen
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
ER	Endoplasmatisches Retikulum
ESCRT-III	Endosomal complexes required for transport III
GPCR	G protein-coupled receptor
GSDMD	Gasdermin D
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1
IL-1 β	Interleukin-1 β
IP ₃	Inositol-1,4,5-triphosphat
K ⁺	Kaliumionen
K _v 1.3	voltage-gated potassium channel 1.3
K _v β DB	K _v β binding domain
LFA-1	Lymphocyte function-associated antigen-1
LPS	Lipopolysaccharid
MS	Multiple Sklerose
MSU	Monosodium urate
NETs	Neutrophil extracellular traps
NLRP3	NOD-, LRR- and pyrin domain-containing protein 3
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
Orai1	Calcium-release-activated calcium modulator-1

PAP-1	5-(4-phenoxybutoxy) psoralen
PIF	PreImplantation factor
PIP ₂	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PLC	Phospholipase C
PSGL-1	P-Selectin glycoprotein ligand-1
SOCE	Store-operated calcium entry
Shk-186	K _v 1.3-spezifischer Inhibitor Dalazatide
STIM1	stromal interaction molecule 1
Syk	Spleen tyrosine kinase
T _{CM} -Zellen	central memory T-Zellen
TCR	Z-Zellrezeptor
T _{EM} -Zellen	effector memory T-Zellen
TLR4	Toll like receptor 4
TNF	Tumornekrosefaktor
TRR359	Transregio-Forschungsbereichs 359
UAT	Urat-Transporter/ Uric acid transporter
UMOD	Uromodulin
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule-1

9. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all den Menschen bedanken, die mich auf meinem wissenschaftlichen Weg begleitet und die Entstehung dieser Habilitationsschrift maßgeblich unterstützt haben.

Besonders bedanken möchte ich mich bei *Prof. Dr. med. Markus Sperandio*. Seine kontinuierliche Förderung in einem exzellenten wissenschaftlichen Umfeld, der beständige fachliche Austausch sowie seine Offenheit für neue Ideen haben es mir ermöglicht, meine Fähigkeiten gezielt weiterzuentwickeln und eigene wissenschaftliche Konzepte zu verfolgen.

Ebenso danke ich allen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern unserer Arbeitsgruppe und unseres Instituts. Ohne ihre kollegiale Hilfe und freundschaftliche Unterstützung wären viele Projekte nicht so erfolgreich verlaufen. Hervorheben möchte ich *Dr. med. Johannes Wießner*, *PD Dr. rer. nat. Monika Prünster*, *Dr. Matteo Napoli*, *Dr. rer. nat. Verena Kochan*, *PD Dr. Heike Beck*, *Dorothee Gössel*, *PD Dr. rer. nat. Steffen Dietzel*, *Dr. rer. nat. Ina Rohwedder* und *Dr. Myriam Ripphahn*.

Ein großer Dank gilt auch allen Kooperationspartnerinnen und Kooperationspartnern für die vertrauensvolle Zusammenarbeit, den interdisziplinären Austausch und die gegenseitige Bereicherung in den gemeinsamen Projekten, insbesondere *PD Stefanie Steiger*, *Dr. Qiuyue Ma*, *Prof. Dr. med. Bärbel Lange-Sperandio*, *PD Dr. rer. nat. Markus Moser* sowie *Prof. Dr. rer. nat. Susanna Zierler*.

Meinen weiteren Fachmentoren, *Prof. Dr. med. Christian Wahl-Schott* und *Prof. Dr. rer. nat. Jürgen Bernhagen*, danke ich für ihre konstruktive und professionelle Begleitung meines Habilitationsverfahrens.

Ebenso möchte ich den Förderinstitutionen danken, die meine wissenschaftliche Arbeit unterstützt haben: der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG), der Friedrich-Baur-Stiftung sowie dem Förderprogramm für Forschung und Lehre (FöFoLe) der LMU München.

Der größte Dank gilt meiner Familie, allen voran *Linda*, *Paulina* und *Jonathan*. Sie sind Rückhalt, Kraftquelle und Motivation zugleich.

10. Eidesstattliche Versicherung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Habilitationsschrift mit dem Titel: „*Regulationsmechanismen der Rekrutierung von Leukozyten während des akuten Entzündungsgeschehens*“ eigenständig verfasst habe. Als Hilfsmittel zur Identifizierung von Rechtschreib- und Grammatikfehlern wurden lediglich Standardprogramme wie Microsoft Word und ChatGTP eingesetzt. Vorschläge zur Verbesserung der Strukturierung der Habilitationsschrift von Prof. Dr. med. Christian Wahl-Schott, Prof. Dr. med. Markus Sperandio und PD Dr. rer. nat. Monika Prünster wurden ebenfalls berücksichtigt. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder unveröffentlichten Schriften entnommen wurden, wurden als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch bei keiner anderen Hochschule oder wissenschaftlichen Einrichtung zur Erlangung einer Habilitation oder eines anderen wissenschaftlichen Grades eingereicht. Weiter wurde mir kein akademischer Grad entzogen.

München, den 17. Juli 2025

Dr. Roland Immler

11. Schriftenverzeichnis

11.1 Originalarbeiten als Erst-, oder Letztautor

- 2024** Immler, R., Nussbaumer, K., Doerner, A., El Bounkari, O., Huber, S., Abisch, J., Napoli, M., Schmidt, S., Margraf, A., Pruenster, M., Rohwedder, I., Lange-Sperandio, B., Mall, M. A., de Jong, R., Ohnmacht, C., Bernhagen, J., Voehringer, D., Marth, J. D., Frommhold, D. and Sperandio, M., CCR3-dependent eosinophil recruitment is regulated by sialyltransferase ST3Gal-IV. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2024. **121**: e2319057121. DOI: [10.1073/pnas.2319057121](https://doi.org/10.1073/pnas.2319057121) IF: 9.4
- 2023** Pruenster, M.*, Immler, R.*, Roth, J., Kuchler, T., Bromberger, T., Napoli, M., Nussbaumer, K., Rohwedder, I., Wackerbarth, L. M., Piantoni, C., Hennis, K., Fink, D., Kallabis, S., Schroll, T., Masgrau-Alsina, S., Budke, A., Liu, W., Vestweber, D., Wahl-Schott, C., Roth, J., Meissner, F., Moser, M., Vogl, T., Hornung, V., Broz, P. and Sperandio, M., E-selectin-mediated rapid NLRP3 inflammasome activation regulates S100A8/S100A9 release from neutrophils via transient gasdermin D pore formation. *Nature Immunology* 2023. *: **equal contribution** DOI: [10.1038/s41590-023-01656-1](https://doi.org/10.1038/s41590-023-01656-1) IF: 27.8
- 2022** Ma, Q.*, Immler, R.*, Pruenster, M., Sellmayr, M., Li, C., von Brunn, A., von Brunn, B., Ehmann, R., Wölfel, R., Napoli, M., Li, Q., Romagnani, P., Böttcher, R. T., Sperandio, M., Anders, H.-J. and Steiger, S., Soluble uric acid inhibits $\beta 2$ integrin-mediated neutrophil recruitment in innate immunity. *Blood* 2022. **139**: 3402-3417. *: **equal contribution** DOI: [10.1182/blood.2021011234](https://doi.org/10.1182/blood.2021011234) IF: 20.3
- Immler, R., Nadolni, W., Bertsch, A., Morikis, V., Rohwedder, I., Masgrau-Alsina, S., Schroll, T., Yevtushenko, A., Soehnlein, O., Moser, M., Gudermann, T., Barnea, E. R., Rehberg, M., Simon, S. I., Zierler, S., Pruenster, M. and Sperandio, M., The voltage-gated potassium channel KV1.3 regulates neutrophil recruitment during inflammation. *Cardiovascular Research* 2022. **118**: 1289-1302. DOI: [10.1093/cvr/cvab133](https://doi.org/10.1093/cvr/cvab133) IF: 10.9
- 2020** Immler, R.*, Lange-Sperandio, B.*, Steffen, T., Beck, H., Rohwedder, I., Roth, J., Napoli, M., Hupel, G., Pfister, F., Popper, B., Uhl, B., Mannell, H., Reichel, C. A., Vielhauer, V., Scherberich, J., Sperandio, M. and Pruenster, M., Extratubular Polymerized Uromodulin Induces Leukocyte Recruitment and Inflammation In Vivo. *Frontiers in Immunology* 2020. **11**. *: **equal contribution** DOI: [10.3389/fimmu.2020.588245](https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.588245) IF: 7.561

11.2 Originalarbeiten als Ko-Autor

- 2025** Cunha, C. M. C., Abreu, V. H. P., Estado, V., Soares, G. M. V., Moraes, B. P. T., Oliveira, G. P., Silva, J. D., Silva, P. L., **Immler, R.**, Rocco, P. R., Sperandio, M., Silva, A. R., Bozza, P. T., Castro-Faria-Neto, H. C. and Gonçalves-de-Albuquerque, C. F., Bosutinib mitigates inflammation in experimental sepsis. *European Journal of Clinical Investigation* 2025. 55: e70055.
DOI: [10.1111/eci.70055](https://doi.org/10.1111/eci.70055)
IF: 4.4
- Wackerbarth, L. M., Seifert, S. B., Napoli, M., Rohwedder, I., Vogl, T., Scheiermann, C., Kolben, T., Nussbaum, C., Pruenster, M., **Immler, R.** and Sperandio, M., Neonatal neutrophils exhibit reduced NLRP3 inflammasome activation. *Journal of Leukocyte Biology* 2025. Sep 23:qiae206.
DOI: [10.1093/jleuko/qiae206](https://doi.org/10.1093/jleuko/qiae206)
IF: 3.6
- 2024** Li, C., Liu, Q., Han, L., Zhang, H., **Immler, R.**, Rathkolb, B., Secklehner, J., de Angelis, M. H., Yildirim, A. Ö., Zeuschner, D., Nicke, A., Carlin, L. M., Sperandio, M., Stoeger, T. and Rehberg, M., The eATP/P2x7R axis drives quantum dot-nanoparticle induced neutrophil recruitment in the pulmonary microcirculation. *Advanced Science* 2024. 11: 2404661.
DOI: [10.1002/advs.202404661](https://doi.org/10.1002/advs.202404661)
IF: 14.3
- Napoli, M., **Immler, R.**, Rohwedder, I., Lupperger, V., Pfabe, J., Gonzalez Pisfil, M., Yevtushenko, A., Vogl, T., Roth, J., Salvermoser, M., Dietzel, S., Slak Rupnik, M., Marr, C., Walzog, B., Sperandio, M. and Pruenster, M., Cytosolic S100A8/A9 promotes Ca²⁺ supply at LFA-1 adhesion clusters during neutrophil recruitment. *eLife* 2024. 13: RP96810.
DOI: [10.7554/eLife.96810.3](https://doi.org/10.7554/eLife.96810.3)
IF: 6.4
- 2021** Nadolni, W., **Immler, R.**, Hoelting, K., Fraticelli, M., Rippahnn, M., Rothmiller, S., Matsushita, M., Boekhoff, I., Gudermann, T., Sperandio, M. and Zierler, S., TRPM7 Kinase Is Essential for Neutrophil Recruitment and Function via Regulation of Akt/mTOR Signaling. *Frontiers in Immunology* 2021. 11.
DOI: [10.3389/fimmu.2020.606893](https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.606893)
IF: 8.787
- Dudeck, J., Kotrba, J., **Immler, R.**, Hoffmann, A., Voss, M., Alexaki, V. I., Morton, L., Jahn, S. R., Katsoulis-Dimitriou, K., Winzer, S., Kollias, G., Fischer, T., Nedospasov, S. A., Dunay, I. R., Chavakis, T., Müller, A. J., Schraven, B., Sperandio, M. and Dudeck, A., Directional mast cell degranulation of tumor necrosis factor into blood vessels primes neutrophil extravasation. *Immunity* 2021. 54: 468-483.e465.
DOI: [10.1016/j.immuni.2020.12.017](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.12.017)
IF: 43.474

- 2020** Rohwedder, I., Kurz, A., R. M. , Pruenster, M., **Immler, R.**, Pick, R., Eggersmann, T., Klapproth, S., Johnson, J., L. , Masgrau Alsina, S., Lowell, C., A. , Mócsai, A., Catz, S., D. and Sperandio, M., Src family kinase-mediated vesicle trafficking is critical for neutrophil basement membrane penetration. *Haematologica* 2020. **105**: 1845-1856.
DOI: [10.3324/haematol.2019.225722](https://doi.org/10.3324/haematol.2019.225722)
IF: **9.941**
- 2018** Tseng, H.-y., Samarelli, A. V., Kammerer, P., Scholze, S., Ziegler, T., **Immler, R.**, Zent, R., Sperandio, M., Sanders, C. R., Fässler, R. and Böttcher, R. T., LCP1 preferentially binds clasped α M β 2 integrin and attenuates leukocyte adhesion under flow. *Journal of Cell Science* 2018. **131**.
DOI: [10.1242/jcs.218214](https://doi.org/10.1242/jcs.218214)
IF: **4.517**
- Winter, C., Silvestre-Roig, C., Ortega-Gomez, A., Lemnitzer, P., Poelman, H., Schumski, A., Winter, J., Drechsler, M., de Jong, R., **Immler, R.**, Sperandio, M., Hristov, M., Zeller, T., Nicolaes, G. A. F., Weber, C., Viola, J. R., Hidalgo, A., Scheiermann, C. and Soehnlein, O., Chrono-pharmacological Targeting of the CCL2-CCR2 Axis Ameliorates Atherosclerosis. *Cell Metabolism* 2018. **28**: 175-182.e175.
DOI: [10.1016/j.cmet.2018.05.002](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.05.002)
IF: **22.415**
- Ye, Y., Vattai, A., Ditsch, N., Kuhn, C., Rahmeh, M., Mahner, S., Ripphahn, M., **Immler, R.**, Sperandio, M., Jeschke, U. and von Schönfeldt, V., Prostaglandin E2 receptor 3 signaling is induced in placentas with unexplained recurrent pregnancy losses. *Endocrine Connections* 2018. **7**: 749-761.
DOI: [10.1530/EC-18-0106](https://doi.org/10.1530/EC-18-0106)
IF: **2.474**
- 2017** Margraf, A., Nussbaum, C., Rohwedder, I., Klapproth, S., Kurz, A. R. M., Florian, A., Wiebking, V., Pircher, J., Pruenster, M., **Immler, R.**, Dietzel, S., Kremer, L., Kiefer, F., Moser, M., Flemmer, A. W., Quackenbush, E., Andrian, U. H. v. and Sperandio, M., Maturation of Platelet Function During Murine Fetal Development In Vivo. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2017. **37**: 1076-1086.
DOI: [10.1161/ATVBAHA.116.308464](https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.116.308464)
IF: **6.086**
- Uhl, B., Hirn, S., **Immler, R.**, Mildner, K., Möckl, L., Sperandio, M., Bräuchle, C., Reichel, C. A., Zeuschner, D. and Krombach, F., The Endothelial Glycocalyx Controls Interactions of Quantum Dots with the Endothelium and Their Translocation across the Blood-Tissue Border. *ACS Nano* 2017. **11**: 1498-1508.
DOI: [10.1021/acsnano.6b06812](https://doi.org/10.1021/acsnano.6b06812)
IF: **13.709**

- 2016** Kurz, A. R. M., Pruenster, M., Rohwedder, I., Ramadass, M., Schäfer, K., Harrison, U., Gouveia, G., Nussbaum, C., **Immler, R.**, Wiessner, J. R., Margraf, A., Lim, D.-S., Walzog, B., Dietzel, S., Moser, M., Klein, C., Vestweber, D., Haas, R., Catz, S. D. and Sperandio, M., MST1-dependent vesicle trafficking regulates neutrophil transmigration through the vascular basement membrane. *The Journal of Clinical Investigation* 2016. **126**: 4125-4139.
DOI: [10.1172/JCI87043](https://doi.org/10.1172/JCI87043)
IF: 12.784
- 2015** Pruenster, M., Kurz, A. R. M., Chung, K.-J., Cao-Ehlker, X., Bieber, S., Nussbaum, C. F., Bierschenk, S., Eggersmann, T. K., Rohwedder, I., Heinig, K., **Immler, R.**, Moser, M., Koedel, U., Gran, S., McEver, R. P., Vestweber, D., Verschoor, A., Leanderson, T., Chavakis, T., Roth, J., Vogl, T. and Sperandio, M., Extracellular MRP8/14 is a regulator of $\beta 2$ integrin-dependent neutrophil slow rolling and adhesion. *Nature Communications* 2015. **6**: 6915.
DOI: [10.1038/ncomms7915](https://doi.org/10.1038/ncomms7915)
IF: 11.329

11.3 Übersichtsartikel/Reviews

- 2024** Maier-Begandt, D., Alonso-Gonzalez, N., Klotz, L., Erpenbeck, L., Jablonska, J., **Immler, R.**, Hasenberg, A., Mueller, T. T., Herrero-Cervera, A., Aranda-Pardos, I., Flora, K., Zarbock, A., Brandau, S., Schulz, C., Soehnlein, O., Steiger, S. and consortium, t. T., Neutrophils - Biology and Diversity. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2023. **39**: 1551-1564
DOI: [10.1093/ndt/gfad266](https://doi.org/10.1093/ndt/gfad266)
IF: 4.8
- 2018** **Immler, R.**, Simon, S.I. and Sperandio, M., Calcium signalling and related ion channels in neutrophil recruitment and function. *European Journal of Clinical Investigation* 2018. **48**: e12964
DOI: [10.1111/eci.12964](https://doi.org/10.1111/eci.12964)
IF: 2.784

11.4 Sonstige Veröffentlichungen

- 2019** Sperandio, M., Margraf, A. und **Immler, R.** Funktionsreifung von Leukozyten und Blutplättchen im Rahmen der fetalen Entwicklung. *Nova Acta Leopoldina NF* 2019. **422**, 105-113