

**Erweiterung einer IL-1 Signaltransduktionskarte zur
Projektion von „deep sequencing“ Transkriptom und
Proteom Daten**

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

des Fachbereichs Medizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Dr. med. dent. Bleymehl, Moritz

aus St. Wendel

Gießen 2021

Aus dem Fachbereich Medizin
Justus-Liebig-Universität Gießen
Rudolf-Buchheim-Institut für Pharmakologie

Gutachter: Prof. Dr. Michael Kracht

Gutachter: PD Dr. Christian Troidl

Tag der Disputation: 12.05.2022

Gewidmet

meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG.....	1
1.1	Das proinflammatorische Zytokin Interleukin-1 (IL-1)	1
1.1.1	Was sind Zytokine?	1
1.1.2	Die Interleukin-1 Familie	1
1.1.2.1	IL-1	2
1.1.2.2	IL-1Ra	8
1.1.2.3	IL-18	9
1.1.2.4	IL-33	10
1.1.2.5	IL-36	12
1.1.2.6	IL-37	12
1.1.2.7	IL-38	13
1.2	Die klinische Bedeutung von Interleukin-1	14
1.2.1	Interleukin-1 vermittelte entzündliche Erkrankungen	14
1.2.2	Tumorassoziation von Interleukin-1	21
1.2.3	Parodontitis: Ein Ausflug in die Zahnmedizin	22
1.3	Pharmakologische Angriffspunkte im Interleukin-1-Signaltransduktionsweg	23
1.3.1	Zugelassene Wirkstoffe	25
1.3.1.1	Anakinra.....	25
1.3.1.2	Canakinumab	25
1.3.2	Experimentelle oder nicht zugelassene Wirkstoffe	26
1.3.2.1	Rilonacept	26
1.3.2.2	Gevokizumab	26
1.3.2.3	LY2189102	26
1.3.2.4	Bermekimab (MABp1)	27
1.3.2.5	MEDI-8968	27
1.3.2.6	CYT013.....	27
1.3.2.7	sIL-1-R1	27
1.3.2.8	sIL-1R2	28
1.3.2.9	EBI-005.....	28
1.3.2.10	Belnacasan (VX-765).....	28
1.4	Die Interleukin-1 Signaltransduktion	29
1.4.1	Das Konzept einer IL-1 Signaltransduktionskarte (aus der Dissertation von Peter Wasiliew).....	31

1.5	Aufgabe- und Fragestellung	31
2	MATERIAL UND METHODEN	33
2.1	In der Dissertation verwendete Software.....	33
2.2	Die Strategie der Literaturrecherche.....	33
2.3	Visualisierung recherchierter Daten aus der Literatur.....	35
2.4	Genomweite Daten zur IL-1-induzierten mRNA Expression	36
2.5	Proteomweite Daten zur IL-1-induzierten Phosphorylierung, Ubiquitinierung und Acetylierung	37
3	ERGEBNISSE	40
3.1	Schrittweises Vorgehen zur Erweiterung einer erweiterten Signaltransduktionskarte für das proinflammatorische Zytokin Interleukin-1.....	40
3.1.1	Zusammenstellung der ausgewählten Publikationen und Ihres Informationsgehalts zu Komponenten des IL-1 Signalwegs	40
3.1.2	Graphische Visualisierung und Implementierung der gesammelten Daten über den IL-1 Signalweg in einem virtuellen Netzwerk	44
3.1.2.1	Die IL-1-Signaltransduktionskarte.....	44
3.1.2.1.1	Neu erstellte Molekülkommentare der erweiterten IL-1 Karte	52
3.1.2.1.2	Neu erstellte Physikalische Interaktionen	63
3.1.2.1.3	Neu erstellte enzymatische Katalysen	68
3.1.2.1.4	Neu erstellte Transportvorgänge	71
3.1.2.1.5	Widerlegte Reaktionen	72
3.1.2.1.6	Nicht in die IL-1-Signaltransduktionskarte übernommene Daten	73
3.2	Projektion von genomweiten Transkriptom- und Proteomdaten zu posttranslationalen Modifikationen auf die IL-1 Signaltransduktionskarte	73
4	DISKUSSION	85
4.1	Implementierung einer IL-1-Signaltransduktionskarte als Wissensarchiv.....	85
4.1.1	Diskussion der Kriterien der Literaturrecherche zum IL-1 Signalweg ...	88
4.1.2	Einschränkungen der IL-1-Signaltransduktionskarte	92
4.2	Diskussion der Projektion von „deep sequencing“ Transkriptom und Proteom Daten	94
4.3	Schlussfolgerung	95
4.4	Bedeutung, Ausblick und Empfehlungen	96
5	ZUSAMMENFASSUNG	98
6	ABSTRACT.....	100
7	VERZEICHNISSE.....	102
7.1	Abkürzungsverzeichnis	102
7.2	Abbildungsverzeichnis	103

7.3	Tabellenverzeichnis	104
7.4	Literaturverzeichnis	105
8	ANHANG	139
8.1	Abbildung A1: IL-1-Signaltransduktionskarte	139
8.2	Abbildung A2: Legende der IL-1-Signaltransduktionskarte	140
8.3	Abbildung A3: Die Autoren der IL-1-Signaltransduktionskarte	141
8.4	Abbildung A4: Projektion der Transkriptomdaten	142
8.5	Abbildung A5: Projektion der Proteomdaten	143
8.6	Publikationsliste.....	144
8.7	Ehrenwörtliche Erklärung.....	145
8.8	Danksagung	146

1 EINLEITUNG

1.1 Das proinflammatorische Zytokin Interleukin-1 (IL-1)

1.1.1 Was sind Zytokine?

Das Wort *Zytokin* stammt ethymologisch von den altgriechischen Begriffen *Zytos* (=Zelle) und *Kinesis* (=Bewegung) ab. Es bezeichnet Proteine, die die Differenzierung und das Wachstum von Zellen regulieren. In dieser Funktion bewirken sie vor allem die extra- und intrazelluläre Orchestrierung des Immunsystems. Zu der großen Gruppe der Zytokine werden Interferone, Chemokine, mesenchymale Wachstumsfaktoren, Tumornekrosefaktoren, Adipokine und schlussendlich die in dieser Arbeit behandelten Interleukine gezählt (Dinarello, 2007). Diese wichtigen Funktionen spielen im Organismus eine entscheidende Rolle, so wundert es nicht, dass nahezu jede kernhaltige Zelle Zytokine herstellen kann. Die Wirkung der Zytokine kann dabei sowohl lokal als auch systemisch erfolgen. Grundsätzlich werden aufgrund der Signaltransduktion zwei Wege unterschieden. Zytokine können an spezifische Rezeptoren auf der jeweiligen Zellmembran binden und dadurch eine Signalkaskade in der Zelle auslösen, die mit der Bildung von Transkriptionsfaktoren und dem Ablesen der entsprechenden Gene endet. Zytokine können aber auch direkt in den Zellkern wandern und dort als Transkriptionsfaktoren fungieren, was ebenfalls mit dem Ablesen der entsprechenden Gene endet (Dinarello, 2007; Mantovani et al., 2019; Netea et al., 2017).

1.1.2 Die Interleukin-1 Familie

Die Interleukin-1 Familie kann funktionell in sieben agonistische Liganden (IL-1 α , IL-1 β , IL-18, IL-33, IL-36 α , IL-36 β und IL-36 γ), in drei Rezeptorantagonisten (IL-1Ra, IL-36Ra und IL-38) und in einen antiinflammatorischen Liganden (IL-37) untergliedert werden. Die dazugehörige IL-1 Rezeptorfamilie besteht aus 10 Proteinen (IL-1R1, IL-1R2, IL-1R3, IL-1R4, IL-1R5, IL-1R6, IL-1R7, IL-1R8, IL-1R9 und IL-1R10). Die Gene dieser Liganden liegen auf dem langen Arm des zweiten Chromosoms, lediglich das Gen des Zytokins IL-18 liegt auf dem elften Chromosom (Dinarello, 2009b; Dunn et al., 2001; Pizarro and Cominelli, 2007; Bensen et al., 2001; Busfield et al., 2000; Sims and Smith, 2010; Nolan et al., 1998) (vgl. Tabelle 1).

Bezeichnung	Alias	Rezeptor	Co-Rezeptor	Funktion
IL-1 α	IL-1F1	IL-1R1 IL-1R2	IL-1R3 (IL-1RAcP)	Alarmin, Entzündung, Th17 Zellantworten
IL-1 β	IL-1F2	IL-1R1 IL-1R2	IL-1R3 (IL-1RAcP)	Antimikrobielle Widerstandsfähigkeit, Entzündung, Th17 Zellantworten
IL-1Ra	IL-1F3	IL-1R1		Entzündungshemmung
IL-18	IL-1F4	IL-1R5 (IL-18R α)	IL-1R7 (IL-18RAcP)	Entzündung, Th1 Zellantworten
IL-33	IL-1F11	IL-1R4 (ST2)	IL-1R3 (IL-1RAcP)	Entzündung, Th2 Zellantworten
IL-36 α	IL-1F6	IL-1R6 (IL-1Rrp2)	IL-1R3 (IL-1RAcP)	Entzündung in Haut und Lunge
IL-36 β	IL-1F8	IL-1R6 (IL-1Rrp2)	IL-1R3 (IL-1RAcP)	Entzündung in Haut und Lunge
IL-36 γ	IL-1F9	IL-1R6 (IL-1Rrp2)	IL-1R3 (IL-1RAcP)	Entzündung in Haut und Lunge
IL-36Ra	IL-1F5	IL-1R6 (IL-1Rrp2)	IL-1R3 (IL-1RAcP)	Entzündungshemmung
IL-37	IL-1F7	IL-1R5 (IL-18R α)	IL-1R8 (SIGIRR)	Entzündungshemmung
IL-38	IL-1F10	IL-1R6 (IL-1Rrp2)	IL-1R9 (IL-1RAPL)	Entzündungshemmung

Tabelle 1: Überblick über die Zytokine der Interleukin-1 Familie.

Die Übersicht zeigt die übliche Nomenklatur in der Literatur an, inklusive der alternativen Begrifflichkeiten als Alias bzw. in Klammern. Zusätzlich sind die zugehörigen Rezeptoren der Zytokine aus der Interleukin-1 Familie dargestellt, sowie die physiologische Funktion der Zytokine im Organismus. Die Darstellung ist modifiziert aus (Dinarello, 2010; Dinarello, 2009a; Pizarro and Cominelli, 2007; Garlanda et al., 2013; Boraschi et al., 2019).

1.1.2.1 IL-1

Es gibt kaum eine Zelle im menschlichen Organismus, auf die das Zytokin IL-1 keinen Einfluss besitzt. Es spielt eine entscheidende Rolle bei autoinflammatorischen, autoimmunen, infektiologischen und degenerativen Erkrankungen (Dinarello, 2010; Dinarello, 2009b; Dinarello, 2012; Sims and Smith, 2010; Gabay et al., 2010; Garlanda et al., 2013). IL-1 wird weiter unterteilt in IL-1 α und IL-1 β , diese sind funktionell und in ihrer dreidimensionalen Konfiguration sehr ähnlich, besitzen allerdings lediglich zu 24% die gleiche Aminosäurestruktur (Dinarello, 2006; Pizarro and Cominelli, 2007; Dunn et al., 2001; Krumm et al., 2014). Sie werden durch unterschiedliche Gene codiert, binden aber an den gleichen Rezeptoren (IL-1 Rezeptoren). Die Wirkungsweise von IL-1 im Immunsystem und bei einer Immunantwort ist vielfältig. IL-1 wirkt im zentralen Nervensystem (ZNS) des Menschen als ein endogenes Pyrogen, d.h. es stimuliert die Fieberreaktion. Außerdem bewirkt oder verstärkt IL-1 die Migration von Leukozyten in entzündete Gewebe. IL-1 sorgt aber auch für eine Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Achse, was einen regulatorischen Einfluss auf das angeborene Immunsystem und Entzündungen hat. Die Umverteilung von Leukozyten (aus dem Blut) in das entzündete Gewebe und die angeborene Immunabwehr werden durch die IL-1-induzierte Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen verstärkt. Darüber hinaus stimuliert IL-1 die Funktion und verlängert die Lebensspanne von neutrophilen

Granulozyten und Makrophagen (Garlanda et al., 2013; Mantovani et al., 2011) (vgl. Abbildung 1).

Die Prozessierung von IL-1 α verläuft über das bereits aktive 31 kDa große Vorläufermolekül, welches durch proteolytische Spaltung zu dem 17 kDa schweren IL-1 α prozessiert wird und durch autokrine oder juxtakrine Sekretion seine Wirkung entfaltet (Dinarello, 1996; Auron et al., 1984; Dinarello, 2009a; Kaplanski et al., 1994). Das fertige Protein besteht aus 159 Aminosäuren (March et al., 1985). IL-1 β wird im Körper hergestellt, indem das inaktive 31 kDa Vorläufermolekül durch enzymatische Reaktionen in sogenannten Inflammasomkomplexen in das 17 kDa schwere, aktive Molekül IL-1 β umgebaut und sezerniert wird und sodann autokrin, parakrin oder parakrin-systemisch wirkt (Keller et al., 2008; Martinon et al., 2002; Dinarello, 2005a; Dinarello, 2005b). Das fertige Protein IL-1 β besteht aus 153 Aminosäuren (Kamogashira et al., 1988b; Kamogashira et al., 1988a; March et al., 1985).

Wenn bestimmte *pattern recognition* Rezeptoren pathogene Mikroorganismen oder pathogene Botenstoffe im Zytosol ihrer Wirtszellen binden, bilden sie Komplexe, die man Inflammasome nennt. Inflammasomkomplexe sind Multiproteinkomplexe, welche die inflammatorische Caspase-1 als enzymatische Komponente enthalten (kanonischer Weg), oder andere Enzyme (nicht kanonischer Weg). Die Caspase-1 katalysiert die Bildung von IL-1 β und IL-18. Zudem leiten Inflammasomkomplexe einen inflammatorischen Zelltod, die Pyroptose ein (Broz and Dixit, 2016). Das Vorkommen und die Bedeutung dieser Komplexe beschränkt sich nicht auf Zellen der angeborenen Immunabwehr, denn sie konnten ebenfalls in epithelialem Gewebe nachgewiesen werden, welches für die Abwehr pathogener Keime und Noxen von großer Bedeutung ist (Winsor et al., 2019). Neben der Inflammasom-abhängigen Prozessierung ist die gesteuerte Freisetzung von IL-1 β ein bedeutender Schritt der Regulation dieses Zytokins. Dabei spielen ATP Rezeptoren der P2X7 Familie eine wichtige Rolle, welche als *pattern recognition* Rezeptoren extrazelluläres ATP binden, wie es durch inflammatorische Prozesse, Apoptose oder Mastzelldegranulation freigesetzt werden kann (Kurashima and Kiyono, 2014; Wareham and Seward, 2016; Russo and McGavern, 2015). Durch diese Bindung wird die Sekretion von IL-1 β angestoßen (Clark et al., 2010) (vgl. Abbildung 2).

Neben ihrem Einfluss auf das Immunsystem, auf Entzündungen und auf Krebserkrankungen gibt es zusätzlich zu vielen Gemeinsamkeiten auch Unterschiede zwischen IL-1 α und IL-1 β (Di Paolo and Shayakhmetov, 2016). Das Vorläufermolekül

von IL-1 α liegt konstitutiv exprimiert in Epithelzellen des Gastrointestinaltraktes, der Lunge, der Leber und der Niere so wie in Endothelzellen und Astrozyten vor. Durch endogene oder exogene Noxen, wie z.B. Nekrosen durch Herzinfarkte, Schlaganfälle, akutes Nierenversagen oder Tumorzellnekrose wird IL-1 α freigesetzt (Garlanda et al., 2013). Das Vorläufermolekül von IL-1 α besitzt bereits eine konstitutive Aktivität, welche als sogenanntes *Alarmin* eine schnelle Abfolge der IL-1-Signaltransduktion verursacht und so weitere entzündliche Zytokine und Chemokine im Rahmen einer aseptischen Entzündung freisetzen kann (Rider et al., 2011; Chen et al., 2007). Ein weiteres Vorkommen von IL-1 α findet man in Zelltrümmern von apoptotischen Epithelzellen, jedoch kann man nur selten frei zirkulierendes IL-1 α nachweisen. IL-1 α vermittelt nicht nur die Anfangsphase der aseptischen Entzündung, sondern liegt auch in membrangebundener Form auf aktivierten Makrophagen vor (Garlanda et al., 2013; Berda-Haddad et al., 2011) (vgl. Abbildung 2). Wenn die Zelle das Signal zur Apoptose erhält, wandert das Zytokin IL-1 α mit hoher Geschwindigkeit vom Zytosol in den Zellkern, bindet dort an das Chromatin und steht somit nicht zur Verfügung, um eine Entzündung zu verursachen. Im Gegensatz dazu wandert bei einer Zellnekrose IL-1 α vom Zellkern ins Zytosol und das IL-1 α Vorläufermolekül wird freigesetzt und verursacht eine Entzündungsreaktion (Cohen et al., 2010; Rider et al., 2011).

IL-1 β hingegen wird aufgrund einer TLR-Aktivierung, durch IL-1 selbst, durch andere Zytokine wie TNF α oder über aktivierte Komplementfaktoren in Monozyten, Gewebsmakrophagen, dendritische Zellen der Haut und Mikrogliazellen des Gehirns aktiviert (Dinarello, 2011b; Dinarello, 2011a). Das Vorläufermolekül von IL-1 β besitzt keine intrinsische Aktivität, es wird, wie bereits erwähnt, durch das Enzym Caspase-1 gespalten und sodann als aktives IL-1 β in den Extrazellularraum sezerniert. Caspase-1 selbst muss dazu allerdings vorher von seinem Proenzym Procaspase-1 durch den Inflammasomkomplex abgespalten werden. Der dafür entscheidende Teil des Inflammasoms wird durch das „Nucleotide-Binding Domain And Leucine Rich Repeat Pyrin Containing Protein-3“ (NLRP3 oder Cryopirin) gebildet (Hoffmann and Faist, 2001). Diese Struktur kann durch *gain of function* Punktmutationen einzelner Aminosäuren Erkrankungen verursachen, bei denen letztlich hohe Mengen an IL-1 β sezerniert werden, wodurch in der Folge autoinflammatorische Prozesse unkontrolliert und rezidivierend ablaufen, sogenannte Cryopirin-assoziierte periodische Syndrome (*cryopyrin-associated periodic syndrome*, CAPS), neonatal beginnende entzündliche Systemerkrankung (*neonatal onset multisystem-inflammatory disease*, NOMID),

Muckle-Wells-Syndrom (MWS) und familiäres kälteinduziertes autoinflammatorisches Syndrom (*familial cold autoinflammatory syndrome*, FCAS) (Masters et al., 2009). Die Bildung von IL-1 β kann zudem nicht nur über den NLRP3 oder Caspase-1 Weg, sondern im Extrazellularraum auch mittels der Spaltung des Vorläufermoleküls von IL-1 β durch die in neutrophilen Granulozyten enthaltenen Enzyme Proteinase-3 oder Elastase ablaufen (Dinarello, 2009b; Dinarello, 2011b; Garlanda et al., 2013).

Die Unterschiede zwischen IL-1 α und IL-1 β liegen nicht so sehr in Ihrer Wirkung stromabwärts des heteromeren IL-1:IL-1R3 Rezeptorkomplexes, sondern sind vielmehr in der Herkunft der Zytokine aus unterschiedlichen Zellen und ihren unterschiedlichen Sekretionsmechanismen begründet. (Pro)IL-1 α besitzt die Funktion eines Transkriptionsfaktors und liegt somit auch im Zellkern vor, wogegen IL-1 β bisher nicht im Zellkern nachgewiesen werden konnte. Eine Besonderheit von IL-1 α liegt im Vorläufermolekül, der ein *Nuclear Localization Signal* (NLS) enthält, mittels dessen er im Zellkern rekrutiert werden und an DNA binden kann. Es wird angenommen, dass dieses Vorläufermolekül selbst auch als Onkoprotein fungieren und so Zellneoplasien auslösen kann (Cohen et al., 2010; Garlanda et al., 2013; Mantovani et al., 2018; Ershaid et al., 2019; Voronov et al., 2018; Kaplanov et al., 2019). Die Rolle von IL-1 im Mikromilieu von Tumoren ist sehr vielseitig und komplex. Die dauerhafte Aufrechterhaltung eines inflammatorischen Milieus durch IL-1 β wird als eine der Hauptsäulen in der Tumorentstehung angesehen (Karin, 2006; Gelfo et al., 2020). Dabei wird zusätzlich auch die genetische Instabilität durch die von IL-1 initiierte Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und Stickstoffmonoxid (NO) erhöht (Karin, 2006). Entscheidend für das weitere Wachstum ist die tumorbedingte Angiogenese, welche sowohl von IL-1 α als auch von IL-1 β gefördert wird (Gelfo et al., 2020; Voronov et al., 2014). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die gegen den Tumor gerichtete Immunantwort des Wirts durch in Tumorzellen produziertes IL-1 vermindert wird (Apte and Voronov, 2017; Bent et al., 2018) (vgl. Abbildung 3). Es konnte gezeigt werden, dass IL-1 nicht nur bei Tumoren, sondern auch bei oxidativem Stress im Allgemeinen eine Rolle spielt. Ähnlich wie LPS vermag auch IL-1 Makrophagen an Orte aerober Glykolyse zu locken; solche Mechanismen dienen der Abwehr von Krankheitserregern (Rodriguez-Prados et al., 2010). In M1 Makrophagen wird der „Hypoxia-Inducible Factor α “ (HIF-1 α) durch die Anhäufung von Succinat stabilisiert, was die Bildung von IL-1 β anregt (Tannahill et al., 2013).

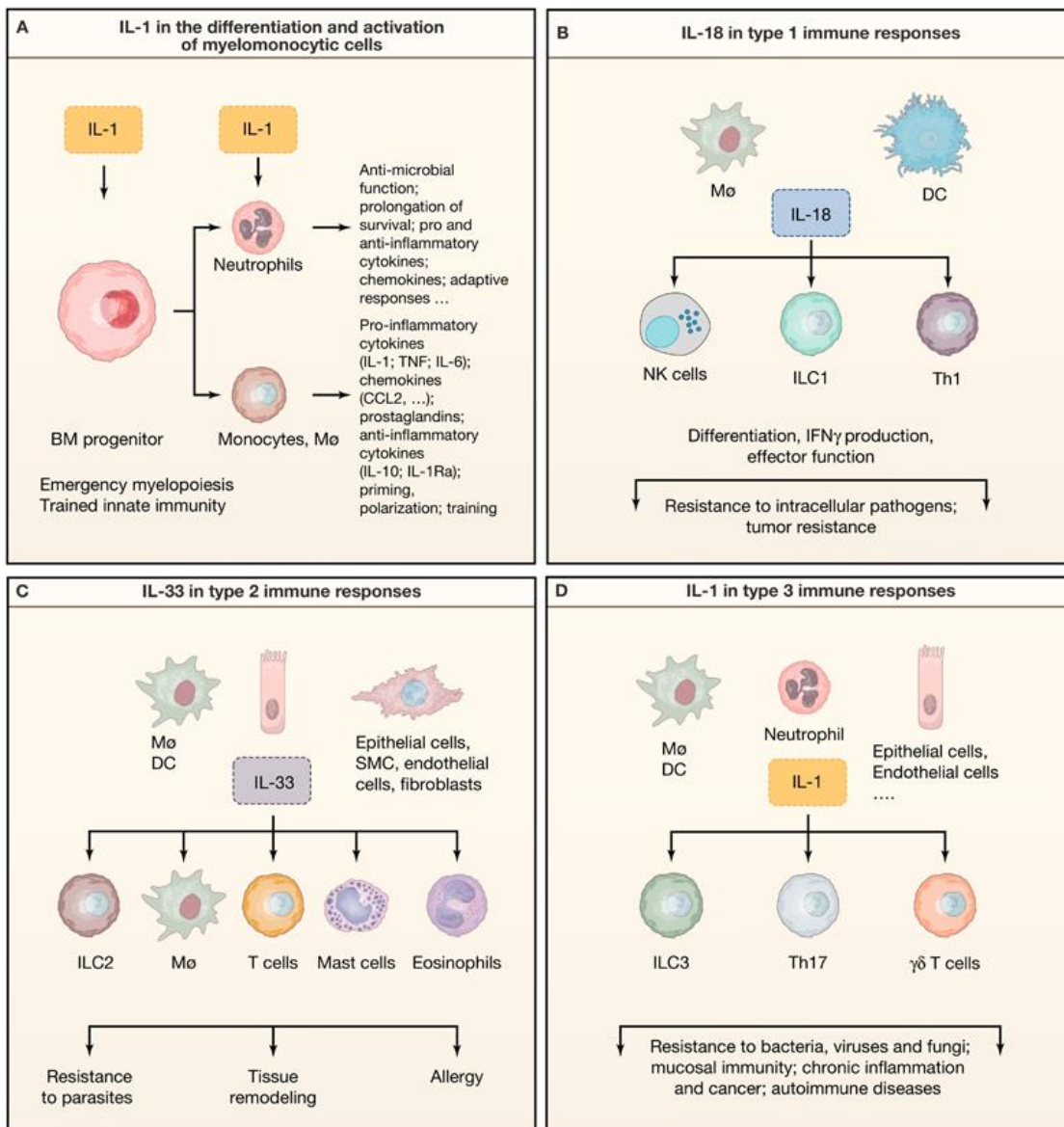


Abbildung 1: Überblick über die Funktion von IL-1 Familienmitgliedern im Immunsystem.

A) Darstellung der Auswirkung von IL-1 β auf die Differenzierung der Zellen der angeborenen Immunabwehr und deren Aktivierung. B) Darstellung der Bedeutung von IL-18 bei der Typ 1 Immunantwort, sowie deren Funktion. C) Darstellung der Bedeutung von IL-33 bei der Typ 2 Immunantwort, sowie deren Funktion. D) Darstellung der Bedeutung von IL-1 bei der Typ 3 Immunantwort, sowie deren Funktion. Abbildung aus (Mantovani et al., 2019). Reproduziert mit der freundlichen Erlaubnis von: Copyright Clearance Center Ordnrnr. 5065801016187.

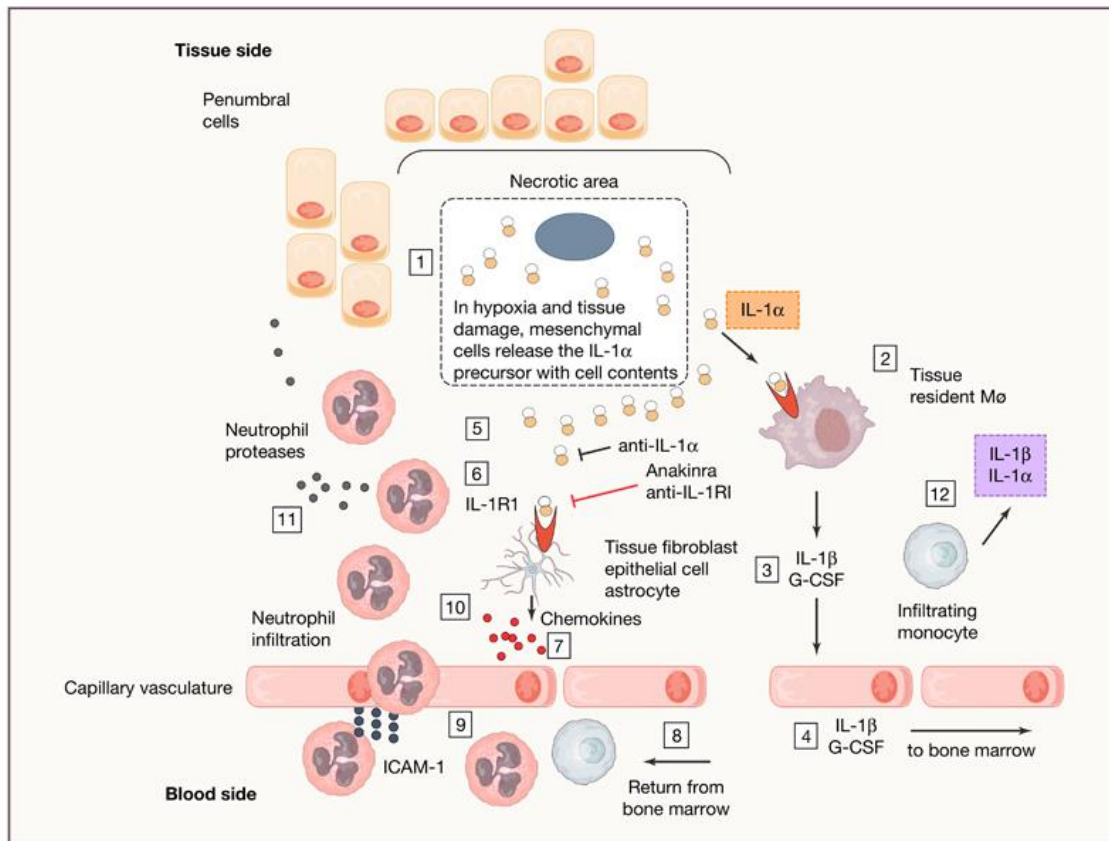


Abbildung 2: Die Bedeutung von IL-1α als Alarmin bei einer Gewebeschädigung.

1.) Durch die Zerstörung der Zelle bei einer Nekrose wird das darin enthaltene (Pro)IL-1α freigesetzt. 2.) IL-1α bindet an den IL-1R1 von Gewebemakrophagen. 3.) Durch die Aktivierung von Inflammasomkomplexen wird IL-1β gebildet und ATP abhängig aus den nekrotischen Zellen zusammen mit G-CSF sezerniert. 4.) IL-1β und G-CSF erreichen über die Blutbahn das Knochenmark, wo sie die Freisetzung von neutrophilen Granulozyten und Monozyten induzieren. 5.) (Pro)IL-1α akkumuliert im extrazellulären Gewebe. 6.) Je nach Gewebetyp bindet IL-1α an den IL-1R1 von Fibroblasten, Epithelzellen oder Astrozyten. An diesem Punkt wirken die Wirkstoffe Anti-IL-1α, Anakinra oder Anti-IL-1R1 und reduzieren so die inflammatorische Reaktion. 7.) Chemokine werden daraufhin produziert und sezerniert. 8.) Die zuvor aus dem Knochenmark freigesetzten neutrophilen Granulozyten und Monozyten erreichen das ischämische Gewebe über den arteriellen Schenkel. 9.) Neutrophile Granulozyten binden an ICAM-1 und können die Gefäßschranke mithilfe von sezernierten Chemokinen überwinden. 10.) In der Folge akkumulieren neutrophile Granulozyten im ischämischen Gewebe. 11.) Die Zellen der Penumbra werden durch die neutrophilen Granulozyten geschädigt. 12.) Die eindringenden Monozyten sezernieren IL-1α und IL-1β. Insbesondere IL-1β führt zur Aufrechterhaltung der Inflammation durch die Aufrechterhaltung der Schritte 6-11. Abbildung aus (Mantovani et al., 2019). Reproduziert mit der freundlichen Erlaubnis von: Copyright Clearance Center Ordernr. 5065801016187.

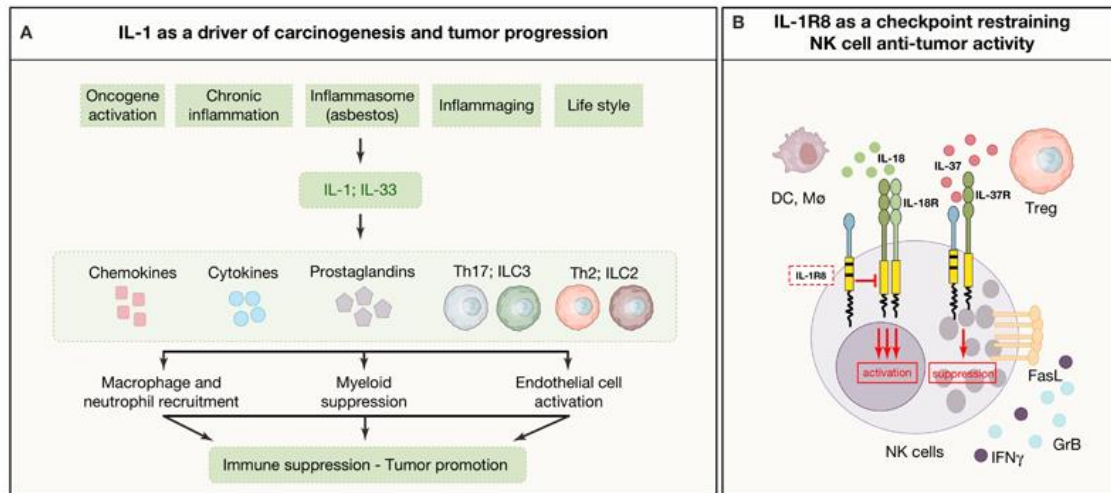


Abbildung 3: Die Rolle von IL-1 Familienmitgliedern bei der Tumorentwicklung.

A) Die im oberen Teil der Abbildung gezeigten Zustände führen über IL-1 und IL-33 Netzwerke zu der Aktivierung von Immunzellen und Mediatoren, welche letztlich die Immunantwort unterdrücken und die Tumorentwicklung fördern. B) Als Schlüsselstelle unterbindet der Korezeptor IL-1R8 (SIGIRR) die Aktivierung von NK Zellen durch IL-18 Aktivität und hemmt die NK Zell Aktivität über IL-37, welches aus regulatorischen T-Zellen freigesetzt wird. Abbildung aus (Mantovani et al., 2019). Reproduziert mit der freundlichen Erlaubnis von: Copyright Clearance Center Ordnr. 5065801016187.

1.1.2.2 IL-1Ra

Der physiologischer Weise gebildete Interleukin-1 Rezeptorantagonist (IL-1Ra) bindet den Rezeptor IL-1R1 mit einer vergleichbaren bzw. sogar größeren Affinität und Spezifität als dessen natürliche Agonisten IL-1 α und IL-1 β . IL-1Ra führt allerdings nicht zur Rekrutierung von „Interleukin-1 Receptor Accessory Protein“ (IL-1R3, ehem. IL-1RAcP), was zur Aktivierung der intrazellulären Signalkaskade benötigt wird und begründet somit die antagonistische Wirkung von IL-1Ra (Dinarello, 2010). Auf molekularer Ebene besetzt IL-1Ra nur zwei von drei Bindungsstellen am Rezeptor IL-1R1 (Dinarello, 2009a; Pizarro and Cominelli, 2007; Boraschi et al., 2018). Es sind eine lösliche, extrazelluläre Isoform von IL-1Ra und zwei intrazelluläre Isoformen von IL-1Ra bekannt, die beim Zelltod freigesetzt werden und so die proinflammatorische Reaktion des Organismus auf diesen Zelltod limitieren (Garlanda et al., 2013). Diese Funktion macht IL-1Ra zum (negativ) regulatorischen Schlüsselmolekül bei vielen entzündlichen Erkrankungen. Ein Mangel oder eine Fehlfunktion von IL-1Ra kann z.B. zu einer Entzündung der arteriellen Gefäße, zu einer Gelenkentzündung, zu psoriasis-ähnlichen Hautläsionen oder zu einer erhöhten Wahrscheinlichkeit der Karzinomentwicklung führen (Horai et al., 2000; Nicklin et al., 2000). An einem genetisch bedingten Mangel von IL-1Ra (durch Gendeletion oder Genmutation) erkrankte Kinder leiden an schwerwiegenden lokalen und systemischen Entzündungen,

wie Hauterkrankungen, Vaskulitiden, osteolytischen Läsionen und aseptischer Osteomyelitis und weisen eine erhöhte Sterblichkeit auf (Reddy et al., 2009; Aksentijevich et al., 2009; Dinarello, 2009b).

1.1.2.3 IL-18

IL-18 ist ein naher Verwandter von IL-1 β und wurde erstmals 1989 als „Interferon- γ Inducing Factor“ beschrieben (Sims et al., 2001; Dunn et al., 2001; Pizarro and Cominelli, 2007). Beide werden mit der Hilfe von Caspase-1 aus inaktiven Vorläufermolekülen abgespalten und können durch Proteinase-3 im Extrazellularraum verarbeitet werden (Dinarello, 2009a; Siegmund et al., 2001). Eine weitere Gemeinsamkeit ist das Vorhandensein von sogenannten Köder (engl. *Decoy*)-Rezeptoren, welche die Zytokine binden ohne eine anschließende Signaltransduktion auszulösen. Dies stellt eine Möglichkeit der negativen Regulation der IL-1 Zytokine dar, so bindet und „neutralisiert“ ein Exzess an IL-1R2 extrazelluläres IL-1 β (Colotta et al., 1993; Boraschi et al., 2019). Das Vorläufermolekül von IL-18 kann in den unterschiedlichsten mesenchymalen Zellen des Menschen gefunden werden, vergleichbar mit IL-1 α (Puren et al., 1999). Eine weitere Ähnlichkeit zu IL-1 α besteht in der Verankerung von IL-18 auf der Zellmembran von Monozyten (Bellora et al., 2012). Eine nahe Verwandtschaft besteht ebenfalls zwischen IL-18 und IL-37 hinsichtlich der Tertiärstruktur ihrer Vorläufermoleküle und den Grenzregionen von Introns und Exons ihrer jeweiligen Gene. Ein weiterer Hinweis auf diese Verwandtschaft besteht in der Fähigkeit von IL-37 an den IL-18 Rezeptor zu binden (Garlanda et al., 2013). Ein wichtiger Teil der Rolle von IL-18 im Immunsystem ist die Regulation der zellvermittelten Antworten von Th1 Zellen und NK Zellen. Weiterhin kann ein Mangel oder eine Funktionslosigkeit von IL-18 Autoimmunerkrankungen, Atherosklerose, myokardiale Erkrankungen, Emphyseme, Psoriasis, chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Sepsis, akutes Nierenversagen, von Makrophagen abhängige Erkrankungen, altersabhängige Makuladegeneration und das metabolische Syndrom verursachen oder mit bedingen (Doyle et al., 2012; Netea et al., 2006; Towne et al., 2011; Kaplanski, 2018). Es konnten Hinweise auf einen alternativen Herstellungsweg von IL-18 gefunden werden, so konnte bei FAS-abhängigen Lebererkrankungen gezeigt werden, dass sie zwar IL-18 abhängig, jedoch nicht Caspase-1 abhängig sind. Möglicherweise sind hier andere, FASL/FAS-aktivierte Caspasen beteiligt (Brydges et al., 2009). So führt eine FAS abhängige Aktivierung von Caspase-8 in Makrophagen und dendritischen Zellen zur Bildung von IL-18 und IL-1 β (Bossaller et

al., 2012). Ein weiteres Beispiel für die funktionelle Verknüpfung der IL-1 und IL-18 Signalwege stellt die Myokardischämie dar. Der ischämische Stress führt zur Aktivierung von Caspase-1, welche die Bildung von maturem IL-1 β und IL-18 bewirkt (Pomerantz et al., 2001; Yasuda et al., 2019).

1.1.2.4 IL-33

Das proinflammatorische Zytokin IL-33 hat ein Molekulargewicht von 30 kDa und besteht am N-terminalen Ende aus einem Chromatin bindenden Motiv und am C-terminalen Ende aus vielen β -Faltblatt Strukturen. Es kann durch Bindegewebszellen und blutbildende Zellen hergestellt werden. Vorkommen von IL-33 finden sich in Epithelzellen, Endothelzellen und Fibroblasten. Caspase-1 spaltet IL-33 und führt so zu dessen Inaktivierung (Cayrol and Girard, 2009). IL-33 kann durch das Enzym Elastase und die Serinprotease Cathepsin G weiter prozessiert werden, es entstehen dadurch wirkungsvollere Varianten von IL-33. Freigesetzt wird IL-33 hauptsächlich über Sekretionsmechanismen oder durch den nekrotischen Zelltod (Lefrancais et al., 2012). Die Signaltransduktion von IL-33 wird durch die Bindung dieses Zytokins an seinen Rezeptor IL-1R4 (ST2) in Gang gesetzt. Dieses Dimer verbindet sich mit IL-1R3 (IL-1RAcP) und MYD88, um den Signalweg zu aktivieren (Liu et al., 2013). IL-1R4 (ST2) wird sowohl auf der Oberfläche von Zellen des angeborenen Immunsystems als auch von Zellen des erworbenen Immunsystems exprimiert. Dieser Signalweg sorgt so für allergische Reaktionen, Wundheilung und Reaktionen auf Infektionen. Diese Reaktionen werden durch unterschiedliche Konzentrationen an löslichen IL-1R4 (ST2) Rezeptoren und löslichen IL-1R3 (IL-1RAcP) Proteinen negativ beeinflusst und herunterreguliert (Ho et al., 2013). Einen ähnlichen Effekt besitzt das Molekül TIR8, welches die IL-33 vermittelte Wirkung und Signaltransduktion unterbindet und somit ebenfalls einen hemmenden Einfluss auf allergische Reaktionen ausüben kann (Bulek et al., 2009). Eine weitere bekannte Möglichkeit der negativen Regulation von IL-33 stellt der Weg einer posttranslationalen Modifikation mithilfe einer Polyubiquitinierung und dem darauffolgenden proteasomalen Abbau des Moleküls dar (Zhao et al., 2012). Das Zytokin IL-33 fördert vor allem die Immunantwort des angeborenen Immunsystems. Es ist in der Lage, systemische Entzündungen sowie Entzündungen von Schleimhäuten zu vermitteln, weiterhin fungiert es auch als Alarmin des angeborenen Immunsystems. Demgegenüber scheint über die Rolle von IL-33 im erworbenen Immunsystem bisher wenig bekannt zu

sein (Oboki et al., 2010). Die Zellreaktionen von Makrophagen auf eine LPS-vermittelte Aktivierung werden durch IL-33 verstärkt. Durch die Aktivierung des IL-33/IL-1R4 (ST2) Rezeptorkomplexes werden mehr LPS-Rezeptoren des MyD88 abhängigen Zellsignalwegs auf der Makrophagenzellmembran exprimiert und so durch eine Sensibilisierung der LPS Antwort die Zytokin- und Chemokinproduktion verstärkt (Espinassous et al., 2009). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass das in Makrophagen enthaltene IL-33 in der Schwangerschaft für die Entwicklung des Trophoblasten und des plazentaren Wachstums eine wichtige Rolle spielt (Fock et al., 2013). Eine weitere wichtige Funktion von IL-33 ist die Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten zum Ort der Infektion mit nachfolgender Beseitigung der Erreger durch die Verhinderung der durch TLR vermittelten Herabregulation des CXCR2 Rezeptors während einer Sepsis (Alves-Filho et al., 2010). Bei Allergien spielt IL-33 eine Rolle im Rahmen der erneuten Exposition des Immunsystems gegenüber einem Allergen und der Ausbildung von IgG-Immunkomplexen. Diese aktivieren in antigenrepräsentierenden Zellen über die Rezeptoren TLR4 und FcγRIII die Bildung von IL-33. Über den IL-33/IL-1R4 (ST2) Signalweg werden in der Folge inflammatorische Immunzellen, wie T-Zellen, basophile Granulozyten, NK Zellen, iNKT Zellen, IL2C Zellen aktiviert und so entsteht letztlich eine allergische Lungenentzündung (Tjota et al., 2013; Albacker et al., 2013). Der IL-33/IL-1R4 (ST2)/IL2C Signalweg scheint ebenfalls für die Entstehung einer Leberfibrose mitverantwortlich zu sein. Schon die Stimulation von Hepatozyten durch aus dendritischen Zellen der Leber freigesetztem IL-33 reicht aus, um eine Leberfibrose auszulösen (McHedlidze et al., 2013). Diesen Signalweg und damit den proinflammatorischen Einfluss von IL-33 haben offenbar diverse Th2 Zell-abhängige Erkrankungen gemeinsam, allerdings hat die Th2 Reaktion nicht nur negative Folgen für den Organismus. So kann diese Immunreaktion zur Abwehr von Helminthen und Viren, welche Atemwegserkrankungen verursachen, dienen (Liew et al., 2010). Genauer noch konnte bei einer Helmintheninfektion gezeigt werden, dass die Helminthen im Wirtsorganismus die Bildung von IL-1 β anstoßen, was wiederum die Bildung von IL-33 unterdrückt und so die Abwehr gegen Helminthen hemmt. Im Umkehrschluss konnte zum einen gezeigt werden, dass durch IL-1 β Blockade mittels Anakinra die Abwehr gegen Helminthen verbessert werden konnte. Zum anderen wurde beobachtet, dass durch die Unterdrückung der IL-33 vermittelten Immunantwort die Th2 Zell-vermittelten Erkrankungen, wie allergisches Asthma oder entzündliche Darmerkrankungen, im Wirtsorganismus klinisch verbessert wurden (Zaiss et al., 2013; Neill et al., 2010).

1.1.2.5 IL-36

Innerhalb der IL-1 Familie besteht die Gruppe der IL-36 Zytokine aus drei bekannten Subtypen: IL-36 α , IL-36 β und IL-36 γ . Diese binden an ihrem Rezeptor IL-1R6 (IL-1Rrp2) zusammen mit ihrem Co-Rezeptor IL-1R3 (IL-1RAcP) (Dinarello, 2011b; Sims and Smith, 2010). IL-36 wird durch Zellen der angeborenen Immunabwehr und von Lymphozyten gebildet und die IL-36 Zytokine erreichen ihre volle Aktivität nach posttranslationaler Prozessierung (Towne et al., 2011). IL-36 fördert die Bildung von proinflammatorischen Zytokinen und Chemokinen. Zusätzlich bewirkt es über die Bildung von IL-12 und folglich von IFN- γ die Ausreifung von Th1 und Th17 Zellen (Vigne et al., 2011; Vigne et al., 2012). IL-36 kann in Epithelzellen gefunden werden, was die Entwicklung von Entzündungsreaktionen in der Lunge und in der Haut ermöglicht, wie z.B. bei der Psoriasis (Blumberg et al., 2007; Tortola et al., 2012; Gresnigt and van de Veerdonk, 2013). In Analogie zum IL-1 System gibt es auch hier einen physiologisch vorkommenden Rezeptorantagonisten (IL-36Ra), welcher in seiner Aminosäuresequenz über 50% Übereinstimmung zu IL-1Ra besitzt. Der Wirkungsmechanismus von IL-36Ra entspricht dem von IL-1Ra. IL-36Ra bindet an IL-1R6 (IL-1Rrp2) und verhindert die Anlagerung von IL-1R3 (IL-1RAcP) und somit die Fortleitung der Signaltransduktion. Alle vier Moleküle der IL-36 Gruppe besitzen keine Angriffspunkte zur Spaltung durch Caspase-1 (Towne et al., 2011).

1.1.2.6 IL-37

Von dem antiinflammatorischen Zytokin IL-37 sind fünf Splicevarianten bekannt, welche alle eine Instabilität auf Proteinebene aufweisen und deshalb eine sehr kurze Halbwertszeit besitzen. Es sind drei Trigger bekannt, die die Bildung von IL-37 bewirken: IL-1 β , TLR Liganden und TGF- β . Letzteres Protein besitzt den größten steigernden Einfluss auf die Bildung von IL-37 (Nold et al., 2010). IL-37 besitzt eine hemmende Wirkung auf Entzündungsphänomene. Dieses konnte durch Inaktivierung von IL-37 mittels siRNA gezeigt werden, was eine Erhöhung von IL-1 β und LPS Molekülen nach sich zog (Nold et al., 2010). IL-37 findet sich im Zellkern und verhindert dort das Ablesen bestimmter Gene (Sharma et al., 2008). Diese Funktion kann IL-37 durch die Bindung an den Transkriptionsfaktor SMAD3 ausüben (Grimsby et al., 2004). IL-37 ist zwar in der Lage, an die Kette von IL-18R α zu binden, wirkt dort allerdings nicht als

Rezeptorantagonist (Kumar et al., 2002; Nold et al., 2013; Bufler et al., 2002; Nold-Petry et al., 2009). IL-37 könnte mithilfe von TIR8 die Signaltransduktion über den IL-1R5 (IL-18R α) unterbinden (Nold et al., 2013). Dadurch könnte IL-37 an einer eher globalen Suppression einer LPS Wirkung im Organismus beteiligt sein, z.B. durch Abmilderung bzw. Verhinderung einer Hypothermie, Azidose, Hyperkaliämie, Hepatitis, Dehydration und der Freisetzung von inflammatorischen Zytokinen (Nold et al., 2010). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass es antientzündlich bei Darmerkrankungen (McNamee et al., 2011) und ischämischen Leberschäden (Sakai et al., 2012) wirkt.

1.1.2.7 IL-38

Über das Zytokin IL-38 ist bisher relativ wenig bekannt. Ursprünglich wurde es durch Computermodellierungen entdeckt. Es wird zur IL-1 Familie gezählt, weil es ebenfalls aus dem IL-1 Gencluster auf Chromosom 2 stammt und eine Ähnlichkeit zur Aminosäuresequenz von IL-1Ra (41% Übereinstimmung) und von IL-36Ra (43% Übereinstimmung) besitzt. IL-38 konnte in basalen Epithelzellen der Haut und in proliferierenden B-Zellen der Tonsillen nachgewiesen werden (Garlanda et al., 2013). Es konnte bisher kein Angriffspunkt für Caspase-1 gefunden werden. Aufgrund der ähnlichen Aminosäurestruktur zu IL-1Ra und wegen seiner Bindungsfähigkeit an rekombinant hergestellten IL-1R1 wird davon ausgegangen, dass IL-38 antiinflammatorisch wirkt (van de Veerdonk et al., 2012). *In vivo* konnte allerdings nur gezeigt werden, dass IL-38 an IL-36R bindet und dadurch die Zellantwort auf das proinflammatorische Zytokin IL-36 vermindert (van de Veerdonk et al., 2012). Aufgrund der inkompletten Inhibition der Zellantwort wird IL-38 als partieller Inhibitor des IL-36R eingestuft. So konnte gezeigt werden, dass IL-38 an entzündlichen Erkrankungen beteiligt ist (Dehghan et al., 2011). Genetische Erkrankungen, die das Gen von IL-38 betreffen, sind mit den Krankheitsbildern der Psoriasis-Arthritis, Morbus Behcet, Autismus Spektrum Störungen, Dermatitis, entzündlichen Autoimmunerkrankungen und der ankylosierenden Spondylitis assoziiert (Maksymowych et al., 2006; Rahman et al., 2006; Zarrabi et al., 2019; Tsilioni et al., 2020; Ummarino, 2017; Han et al., 2019; Xie et al., 2019).

1.2 Die klinische Bedeutung von Interleukin-1

Heutzutage ist unbestritten, dass IL-1 eine wichtige (patho-)physiologische Rolle einnimmt, sowohl in der Krankheitsentstehung von vielen entzündlichen Krankheiten als auch als pharmakologische Zielstruktur, wobei in der Regel versucht wird, IL-1 Wirkungen zu hemmen. In der ersten Dekade nach Entdeckung der IL-1 Zytokine wurde allerdings zunächst versucht, die bekannte (oder vermutete) aktivierende Wirkung auf das Immunsystem durch die Gabe von rekombinanten IL-1 auszunutzen. So hat man Patienten IL-1 verabreicht, um deren Knochenmarksfunktion zu verbessern. Die Therapien mussten unter schweren proinflammatorischen Nebenwirkungen wie Fieber, Appetitverlust, Muskel- und Gelenkschmerzen, Abgeschlagenheit, Magen-Darm-Problemen, Schlafstörungen, Hypotonie und sepsis-ähnlichem Krankheitsbildern abgebrochen werden (Dinarello, 1996; Smith et al., 1993; Crown et al., 1991). Trotzdem waren diese frühen Beobachtungen an Patienten wertvoll, da sie eindrucksvoll zeigten, dass ein einzelnes Zytokin wie IL-1 als „Masterzytokin“ der Entzündung fungieren kann. Da seine systemische Verabreichung das Gesamtbild eines Zytokinsturms in sehr geringen Konzentrationen (im picomolaren Bereich) auslösen kann, spielt die Gabe von rekombinantem IL-1 aufgrund der geringen Steuerbarkeit und der lebensbedrohlichen Nebenwirkungen heutzutage keine Rolle mehr (Dinarello, 2011a). Vielmehr hat sich in den letzten 20 Jahren seit der Einführung von Anakinra (dem rekombinanten IL-1RA) gezeigt, dass die Blockade von IL-1 nebenwirkungsarm, schnell und effektiv IL-1-getriebene Krankheitsbilder beeinflussen kann. Anakinra ist dabei so wirkungsvoll und gut verträglich, dass eine einmalige Gabe auch zu diagnostischen Zwecken erfolgen kann, um eine autoinflammatorische Erkrankung differentialdiagnostisch einzugrenzen (Dinarello et al., 2012; Cavalli and Dinarello, 2018).

1.2.1 Interleukin-1 vermittelte entzündliche Erkrankungen

Der Begriff der autoinflammatorischen Erkrankung beschreibt die generell erhöhte Entzündungsaktivität, welche durch Zytokine des angeborenen Immunsystems (vor allem IL-1 β) verursacht wird, ohne dass die Bildung von Autoantikörpern durch aktivierte B-Zellen oder die Vermehrung von autoreaktiven T-Lymphozyten beobachtet wird (Kastner et al., 2010). Es konnte gezeigt werden, dass Monozyten von Patienten mit autoinflammatorischen Erkrankungen mehr IL-1 β sezernieren als Monozyten der gesunden Kontrollgruppe (Goldbach-Mansky et al., 2006; Drenth et al., 1996; Gattorno

et al., 2008; Gattorno et al., 2007; Pascual et al., 2005; Colina et al., 2010). Autoinflammatorische Syndrome zeichnen sich also dadurch aus, dass sie vor allem durch Zellen und Mediatoren des myeloiden Systems ausgelöst und unterhalten werden.

An der hereditär bedingten Krankheit *deficiency of interleukin-1 receptor antagonist* (DIRA) lässt sich eindrucksvoll aufzeigen, wie potent das proinflammatorische IL-1 sein kann aber auch wie potent pharmakologische IL-1 Antagonisten diese Wirkung aufheben. Der autosomal rezessiv vererbaren Krankheit liegt eine homozygote Mutation im IL-1RN Gen zugrunde, welches für IL-1Ra codiert. Es wurden mittlerweile mehrere Mutationsarten als Ursache beschrieben; so wurden *frameshift* Deletionen, *nonsense* Mutationen und *in-frame* Mutationen im IL-RN Gen berichtet (Aksentijevich et al., 2009; Reddy et al., 2009; Jesus et al., 2011; Kuemmerle-Deschner et al., 2020). Diese führen letztlich zu einem kompletten Verlust von funktionsfähigem IL-1Ra Protein. Folglich fehlt der natürliche Gegenspieler von IL-1 und es herrscht eine unbeschränkte inflammatorische Stoffwechsellage vor. Klinisch zeigen sich bei Kleinkindern spontan starke Entzündungen der Haut, Knochen und Gelenke. Durch Substitution von Anakinra kann eine lebensbedrohliche Verschlimmerung dieser Entzündungen oder ein tödlicher Ausgang verhindert werden (Reddy et al., 2009; Aksentijevich et al., 2009; Kuemmerle-Deschner et al., 2020). DIRA deutet auch die Vielschichtigkeit von Erkrankungen an, die mit dem IL-1 Signalweg vergesellschaftet sind. So zeigen Betroffene eine erhöhte proinflammatorische Aktivität, die sich auch in einer höheren Inzidenz von Diabetes mellitus Typ 2 äußert (Larsen et al., 2009).

Eine der bekanntesten Erkrankungen aus dem autoinflammatorischen Formenkreis ist das familiäre Mittelmeerfieber (FMF). Verursacht wird die FMF Erkrankung durch eine Mutation im Mittelmeerfieber Gen, welches für das Protein Pyrin codiert (Mansfield et al., 2001). Die Patienten leiden an Fieberschüben mit Schmerzen, die ein akutes Abdomen verursachen bzw. vortäuschen können. Pyrin verhindert die Aktivierung von Caspase-1 im Inflammasomkomplex, welches aus dem Vorläuferprotein die aktive Form von IL-1 β abspaltet. Folglich führt die funktionsunfähige Mutante von Pyrin zu einer unkontrollierten IL-1 β Freisetzung (Chae et al., 2009).

Ein verwandtes Krankheitsbild ist das CAPS. Hier findet sich eine Punktmutation in dem Protein NLRP3 (veraltet Cryopyrin). CAPS Erkrankungen werden in verschiedene Unterformen unterteilt, wie das FCAS, das MWS und die Neugeborenen Multisystem

Entzündungserkrankung (NOMID bzw. CINCA). An NOMID erkrankte Kinder leiden nicht nur an Hautausschlag, Gelenkzerstörung, Augenentzündungen, Hirn(haut)entzündung und Hörverlust, sondern auch an Lernschwäche und emotionaler Entwicklungsstörung (Goldbach-Mansky et al., 2006; Goldbach-Mansky, 2011).

Das TNF Rezeptor-assoziierte periodische Syndrom (TRAPS) ist eine Mutation des TNF Rezeptor 1 (TNFR1) mit autosomal dominanter Vererbung (McDermott et al., 1999). Der mutierte Rezeptor kann nicht in die Zellmembran eingebaut werden und akkumuliert im Zytosol, was die Produktion von IL-1 durch die Aktivierung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) anregt (Simon et al., 2010; Bulua et al., 2011). Klinisch äußert sich die Erkrankung mit Fieberschüben und systemischer Entzündung, die IL-1 vermittelt sind, da sich die Symptome unter anti-IL-1 Therapien verbessern (Cudrici et al., 2020).

Das Hyper-IgD-Syndrom (HIDS) ist gekennzeichnet durch vier bis sechs Tage andauerndes Fieber, Muskelschmerzen, Hautausschlag, Ulzera der Mundschleimhaut und geschwollenen Lymphknoten. Die autoentzündliche Erkrankung wird autosomal rezessiv vererbt. Durch eine *loss of function* Genmutation des Enzyms Mevalonatkinase wird über mehrere Signalwege eine unkontrollierte Casapase-1 Aktivität und damit IL-1 Bildung verursacht (Stoffels and Simon, 2011; Gosavi et al., 2006).

Durch die gute Wirkung von Canakinumab und Anakinra bei Morbus Behcet, einer systemischen autoinflammatorischen Kleingefäßvaskulitis unklarer Ätiologie, konnte der Zusammenhang der Erkrankung mit IL-1β vermittelter Inflammation belegt werden. Klinisch zeigt sich eine systemische Entzündung, die alle Organe, Gewebe und Gefäße befällt. Dadurch entsteht eine Blutgerinnungsneigung und es entstehen Ulzera in den Schleimhäuten (Gul et al., 2012; Bettiol et al., 2019b). Beim Morbus Behcet sind häufig die Augen oder Schleimhäute betroffen, welche besonders gut auf eine anti-IL-1 Behandlung ansprechen, welche daher auch als Primärtherapie empfohlen wird (Bettiol et al., 2019b).

Es gibt eine Reihe von chronisch entzündlichen Erkrankungen, bei denen die herkömmlichen Therapieansätze, wie nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR oder NSAIDs), Glukokortikoide, immunsupprimierende Medikamente und TNF Inhibitoren, nicht die gewünschte Wirkung erzielen. Einen Durchbruch konnte allerdings mit der Einführung von IL-1 Inhibitoren erzielt werden. Beispiele hierfür sind die systemische jugendliche idiopathische Arthritis (SJIA) und eine Unterform des periodischen

Fiebersyndroms (PFAPA). Es konnte gezeigt werden, dass bei PFAPA eine erhöhte IL-1 Aktivität vorliegt und eine Therapie mit IL-1 Inhibitoren wirkungsvoll ist (Stojanov et al., 2011; Soriano et al., 2020). Ebenso zeigte sich bei SJIA, dass mit der anti-IL-1 Therapie ein hochwirksamer Ansatz zur Verfügung steht (Toplak et al., 2018).

Anakinra konnte den Zusammenhang von IL-1 mit der idiopathischen rezidivierenden Perikarditis aufdecken. Als Folge von Entzündungen des Perikards treten dauerhafte retrosternale Schmerzen auf. Die Perikarditis konnte durch Anakinra erfolgreich therapiert werden (Scott et al., 2011). Ebenso konnte durch eine Besserung der Symptome bei dem Makrophagen Aktivierung Syndrom (MAS) nach Gabe von Anakinra ein Zusammenhang mit IL-1 vermutet werden (Aronson and Worobec, 2010; Bruck et al., 2011; Behrens et al., 2006; Durand et al., 2010). MAS ist ein lebensgefährliches Syndrom, dass bei SIJA (Zhang et al., 2008), Lymphomen, Lupus oder Infektionen mit Epstein-Barr Virus oder Zytomegalievirus auftreten kann (Mazodier et al., 2005). Klinisch zeigt sich eine Knochenmarksuppression und eine Hepatitis. Die genauen pathologischen Vorgänge bleiben allerdings noch unklar.

Durch pathologische Veränderungen im metabolischen Gleichgewicht des Organismus, wie z.B. Fettleibigkeit und Fettsucht, kann die Bildung von IL-1 erhöht sein (Tack et al., 2012). Man geht allerdings davon aus, dass sich die Bedeutung von IL-1 α und von IL-1 β in diesem Zusammenhang von fettinduzierten Gefäßveränderungen und Atherosklerose unterscheiden könnte (Freigang et al., 2013). Dabei war die Entstehung von Atherosklerose lange Zeit nur mit IL-1 β in Verbindung gebracht worden. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Freisetzung von IL-1 α , aber nicht die von IL-1 β , durch freie Fettsäuren getriggert werden kann. Darüber hinaus wird dadurch eine mitochondriale Abkopplungsreaktion verursacht, die wiederum die Cholesterol induzierte IL-1 β Bildung verhindert. Bei Gefäßerkrankungen setzt metabolischer Stress folglich IL-1 α abhängige Signalkaskaden in Gang (Freigang et al., 2013). IL-1 β ist selbst in hochakuten IL-1 vermittelten Entzündungen im Blut nur gering erhöht (bis zum 5-fachen des Normwerts), während IL-1 α im Blut in der Regel nicht nachweisbar ist (Lachmann et al., 2009).

Das Zytokin IL-1 spielt bei ischämischen Ereignissen ebenfalls eine wichtige Rolle, denn diese gehen mit einer Entzündungsreaktion aufgrund der Zellnekrose einher. Es liegen zahlreiche Tierstudien über ischämische Folgen an Herz (Abbate et al., 2008), Lunge

(Abraham and Allbee, 1994), Leber (Calkins et al., 2002), Niere (Rusai et al., 2008) und Gehirn (Boutin et al., 2001) vor. In der Nekrosezone kommt es zur Einwanderung von neutrophilen Granulozyten und anschließend zur paranekrotischen Anhäufung von myeloischen Vorläuferzellen in der Penumbra. Die Zellen der Penumbra sind potenziell reversibel geschädigt und damit heilbar. Bei Patienten mit einem ST Hebungsinfarkt am Herzen (STEMI) kommt es zu einer großen transmuralen Myokardnekrose. Wenn diese Patienten die Akutphase überleben, besteht allerdings in der Folge ein hohes Risiko von Herzversagen oder einem zweiten Herzinfarkt aufgrund der Entzündungsreaktion nach dem ischämischen Ereignis. Die Unterbrechung dieser Entzündungsreaktion mittels IL-1 Blockade konnte in Tierstudien die Funktion des Herzmuskels verbessern (Abbate et al., 2008; Abbate et al., 2010). Ebenso konnte auch ein Zusammenhang bei der chronischen Herzinsuffizienz gezeigt werden, da IL-1 auf direktem Wege die Kontraktionskraft des Herzens negativ beeinflusst und indirekt eine Entzündung des Herzens verursachen kann, welche wiederum mehr IL-1 produzierende Zellen zum Ort der Entzündung lockt. Auch konnte gezeigt werden, dass Blutplasma von Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz aktives IL-1 enthält (Van Tassell et al., 2012).

Für IL-1 α und IL-1 β konnte eine Toxizität für β -Zellen des endokrinen Pankreas (den insulinproduzierenden Zellen) nachgewiesen werden (Mandrup-Poulsen et al., 2010). Sowohl in Diabetes mellitus Typ 1 als auch in Typ 2 konnten erhöhte IL-1 β Spiegel im Blut von Patienten nachgewiesen werden. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass erhöhte Blutglukosespiegel die IL-1 β Bildung in β -Zellen erhöhen können (Maedler et al., 2002). Dieser Prozess stellt einen Teufelskreis dar, bei dem die Autoinflammation die Selbstzerstörung der β -Zelle weiter unterhält (Donath and Shoelson, 2011). Einen verstärkenden Effekt auf diese Vorgänge könnten die Amyloidablagerungen der Langerhansschen Inseln haben, die ebenfalls die IL-1 β Produktion verstärken (Masters et al., 2010). Im Vergleich zu gesunden Probanden konnte in den β -Zellen von DM Typ 2 Patienten bis zu 100-fach erhöhte IL-1 β mRNA Spiegel gemessen werden (Donath and Shoelson, 2011). Auch der Einfluss des Hochrisikofaktors Übergewicht auf Diabetes könnte mittels der IL-1 Signalwege erklärt werden. Denn in Makrophagen des Fettgewebes wird durch Caspase-1 abhängige Mechanismen IL-1 β gebildet (Stienstra et al., 2011; Vandanmagsar et al., 2011). Umgekehrt konnte diese Hypothese durch die Behandlung mit einem Caspase-1 Inhibitor und der darauffolgenden geminderten Insulinresistenz in einer präklinischen Studie am Tiermodell der Maus gefestigt werden

(Stienstra et al., 2011). Allerdings konnte klinisch keine Verbesserung der Insulinsensitivität bei nichtdiabetischen, an metabolischen Syndrom erkrankten Patienten unter der Behandlung mit Anakinra gefunden werden (van Asseldonk et al., 2011). In der *Canakinumab Anti-Inflammatory Thrombosis Outcomes Study* (CANTOS) konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die Inzidenz von Diabetes mellitus Typ 2 (DM2) unter Behandlung von Canakinumab nicht gesenkt werden konnte. Allerdings zeigte sich eine signifikante Erniedrigung von schweren kardiovaskulären Ereignissen (zum Beispiel Herzinfarkt) (Everett et al., 2018).

Für den klinischen Einsatz von anti-IL-1 Therapeutika läuteten die Ergebnisse aus der CANTOS Studie eine neue Ära ein (Ridker et al., 2017a). In dieser randomisierten, doppelverblindeten Studie konnte an einer Kohorte von über 10.000 Probanden gezeigt werden, dass bei Patienten nach vorangegangenem Herzinfarkt und einer gleichzeitigen schwelenden Entzündung (d.h. einem dauerhaft erhöhten C-reaktiven Protein) eine IL-1 β Blockade durch Canakinumab die Reinfarktrate, die Hospitalisierungsrate (zum Beispiel aufgrund einer dekompensierten Herzinsuffizienz) und die Mortalität sank (Ridker et al., 2017a; Everett et al., 2018; Everett et al., 2019; Ridker, 2019; Jansen and Janssen, 2019; Rothman et al., 2020; Ridker et al., 2018). Überraschenderweise sank in der Kohorte ebenfalls die Inzidenz an Bronchialkarzinomen (Crossman and Rothman, 2018). Die CANTOS Studie stellt daher eine wichtige klinische Evidenz für den Einsatz von anti-IL-1 Therapeutika bei häufigen, mit chronisch entzündlichen Prozessen assoziierten Herz-/Kreislaufkrankungen dar (Maffia and Guzik, 2019; Aday and Ridker, 2018). Die Bedeutung von Anti IL-1 Therapien wird durch die steigende Anzahl an laufenden klinischen Studien bestätigt, es gibt zurzeit 3.168 Studien, die IL-1 einschließen (davon 199 in Phase 3), 388 Studien mit Anakinra (davon 37 in Phase 3) und 93 Studien mit Canakinumab (davon 30 in Phase 3) (clinicaltrials.gov; 03.01.2021) (vgl. Tabelle 2).

Bei pathologischen Prozessen im Rahmen einer Gelenkentzündung konnte ebenfalls ein Zusammenhang mit IL-1 gefunden werden. Ein Mechanismus, der zur Schädigung des Knorpelgewebes führt, ist die von IL-1 β verursachte verminderte Bildung von Proteoglykanen. Diese Proteine werden für die physiologische Funktion und Belastbarkeit des Knorpels benötigt. Ein weiterer Mechanismus ist die von IL-1 β vermittelte Bildung von Matrix-Metalloproteasen und Stickoxiden, da beide Moleküle am Abbau des Knorpels beteiligt sind (Joosten et al., 2004).

Die rheumatoide Arthritis (RA) besitzt wie alle Autoimmunerkrankungen einen entzündlichen Anteil, der durch IL-1 verursacht wird (Dinarello, 2019). Die pathologischen Vorgänge sind ähnlich zu denen der aktivierten Arthrose. Es konnte gezeigt werden, dass nach Verabreichung von Anakinra weniger Entzündungszellen in die betroffenen Gelenke einwandern (Cunnane et al., 2001). In der Folge konnten nach 48 Wochen Behandlungszeit deutlich weniger Gelenkschäden protokolliert werden als in der Kontrollgruppe ohne Anakinra (Bresnihan et al., 2004). In diesem Zusammenhang wird ein weiterer Prozess diskutiert, denn ein Effekt der IL-1 Inhibition durch Anakinra ist die Inaktivierung von Osteoklasten über die Hemmung der Bildung von „Receptor Activator Of NF- κ B Ligand“ RANKL. Ohne RANKL kommt es zur Hemmung der Osteoklastendifferenzierung, welche IL-1 β abhängig ist (Dewhirst et al., 1985; Amarasekara et al., 2018; Dinarello, 2019).

Die entzündliche Erkrankung Gicht ist ebenfalls mit IL-1 β assoziiert (Martinon et al., 2006). Die Harnsäureablagerungen in den Gelenken aktiviert in Verbindung mit freien Fettsäuren die IL-1 β Produktion. Dieser Sachverhalt könnte nicht nur die Verbindung mit IL-1 β , sondern auch den Zusammenhang mit der Ernährung bei der Gicht erklären (Joosten et al., 2010). Anti-IL-1 Therapien mit Canakinumab oder Anakinra sind bei der akuten Gicht hochwirksam (Kluck et al., 2020b; So et al., 2018).

Aktuell spielt der Einsatz der anti-IL-1 Therapie als immunmodulierende Therapie bei *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19), ausgelöst durch das *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) eine Rolle (Rizk et al., 2020; Navarro-Millan et al., 2020). Patienten mit schweren Verläufen der COVID-19 Erkrankung entwickeln ein mit einer hohen Mortalität einhergehendes Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). Dies wird wahrscheinlich durch einen überschießenden Zytokinsturm, initiiert von IL-6, ausgelöst (Hojyo et al., 2020). Der Therapieansatz von Anakinra bei schweren COVID-19 Verläufen besteht in der Kontrolle dieser Hyperinflammation. Tatsächlich konnten Hinweise in Kohortenstudien gefunden werden, dass der Einsatz von Anakinra in der Kohorte mit schweren Verläufen, die auf einer Intensivstation behandelt werden mussten, die Notwendigkeit einer invasiven Beatmung und die Mortalität der Patienten verringert. Dies wurde ohne ernsthafte Nebenwirkungen ermöglicht. Die Autoren dieser Studien weisen allerdings darauf hin, dass es weiterer randomisierter kontrollierter Studien bedarf, um die Wirksamkeit von Anakinra zu bestätigen (Cavalli et al., 2020; Huet et al., 2020; Kooistra et al., 2020a; Kooistra et al., 2020b).

1.2.2 Tumorassoziation von Interleukin-1

IL-1 spielt in der Tumorentstehung und dem entzündlichen Mikroumfeld im Tumorgewebe eine wichtige Rolle (Mantovani et al., 2008). Durch die systemische entzündungsfördernde Wirkung von IL-1 steigt die Auftretenswahrscheinlichkeit von Tumoren im Pankreas, im Colon, in der Haut und in der Leber an (Salcedo et al., 2013). Die RAS Aktivierung bzw. Überaktivierung über den IL-1 α /MYD88/NF- κ B Signalweg fördert die Karzinomentstehung, das unkontrollierte Karzinomwachstum und die Invasivität des Tumors gegenüber dem umliegenden Gewebe (Salcedo et al., 2013). IL-1 ist in der Lage, die Immunantwort gegen den Tumor zu unterdrücken und dadurch die Tumorentwicklung zu fördern, was es als Zielmolekül in der Tumorthherapie prädestiniert (Mantovani et al., 2018).

Sowohl die myeloischen als auch die lymphatischen Leukämieformen stehen in Zusammenhang mit einer erhöhten Bildung von IL-1 β in den Leukämiezellen aus dem Knochenmark und dem Blutkreislauf. Dies trifft ebenfalls bei Sonderformen der Leukämie, wie Haarzellleukämie, multiples Myelom und T-Zell Leukämie zu, wo erhöhte Spiegel von IL-1 β in den veränderten Zellen gemessen werden. Der Wachstumsfaktor Granulozyten-Monozyten-Kolonie-stimulierender Faktor (GM-CSF) wird IL-1 β vermittelt gebildet. Durch diesen Prozess fördert IL-1 β indirekt das Wachstum leukämischer Zellen (Dinarello, 1996). Das von den Myelomzellen aus dem Knochenmark produzierte IL-1 β fördert die Bildung und Sekretion von IL-6 aus Stromazellen, welches wiederum die Überlebensfähigkeit und das Wachstum von Myelomzellen erhöht (Dinarello, 2009c).

Es konnte gezeigt werden, dass Mäuse mit konstitutivem Knockout von IL-1 β weniger Tumore entwickeln als Mäuse mit konstitutivem Knockout von IL-1 α (Krelin et al., 2007). Im Umkehrschluss konnte auch gezeigt werden, dass IL-1 β an der Entwicklung von Gefäßen in Tumoren und deren metastatischer Verbreitung beteiligt ist (Carmi et al., 2013; Mantovani et al., 2018). Dies stimmt mit der Beobachtung überein, dass unter IL-1 Einfluss die Metastasierung weiter voranschreiten kann und sogar neue primäre Karzinome entstehen können (Apte et al., 2006; Salcedo et al., 2013). IL-1 induziert von der mRNA Synthese, über die Proteinbildung bis zu der Sekretion sehr potent Chemokine, stellvertretend insbesondere das prometastatische und neoangiogenetische IL-8. Diese Chemokine bestimmen die Interaktion zwischen Tumor und Immunsystem des Wirts in der sogenannten Mikroumgebung des Tumors. Diese Schnittstelle

entscheidet maßgeblich über das Fortschreiten des Tumors und dessen Metastasierung und somit auch über die Tumormortalität. Ein besseres Verständnis der Mikroumgebung des Tumors ist daher wichtig für die Entwicklung von zielgerichteten Therapien (Weiterer et al., 2020; Chen et al., 2018; Nagarsheth et al., 2017; Ha et al., 2017; Tan and Weninger, 2017).

Das Schnitzler Syndrom zeichnet sich durch Fieberschübe, Hautausschlag und eine Gammopathie aus, welche bis zu hämato-onkologischen Erkrankungen, wie z.B. dem Morbus Waldenström, einem indolenten B-Zell Non Hodgkin Lymphom, fortschreiten kann. Bisher konnte gezeigt werden, dass die Behandlung mit Anakinra die entzündlichen Symptome kontrollieren kann (de Koning et al., 2006; de Koning et al., 2007; Martinez-Taboada et al., 2005; Ryan et al., 2008; Szturz et al., 2011). Das gleiche gilt für die Behandlung mit Canakinumab (de Koning et al., 2011). Ob die Behandlung allerdings auch die Inzidenz von Malignomen reduzieren kann, bleibt unklar.

1.2.3 Parodontitis: Ein Ausflug in die Zahnmedizin

Eine prominente, allerdings in der Humanmedizin vielleicht weniger beachtete Rolle von IL-1 betrifft die Pathogenese der Parodontitis, einer chronisch entzündlichen Erkrankung des Zahnhalteapparates in der Mundhöhle (Graves and Cochran, 2003; Papathanasiou et al., 2020). Klinisch findet sich hier eine kombinierte Zerstörung von Knochengewebe und Weichgewebe. Aufgrund der engen Lagebeziehung von Epithel und Knochen, der guten Durchblutung und der dauerhaften Keimbeseidlung stellt die Mundhöhle in Kombination mit einer Parodontitis eine Prädispositionsstelle für systemische Erkrankungen, wie z.B. einer Endokarditis dar.

Im Epithel der Mundschleimhaut konnten bei einer Parodontitis erhöhte Spiegel von IL-1 β gemessen werden (Stashenko et al., 1991; Perozini et al., 2010; Kurtis et al., 2005). Diese erhöhten Werte verschwanden nach erfolgreicher parodontaler Therapie wieder (Holmlund et al., 2004; Gamonal et al., 2000). Weiterhin konnte in Tierexperimenten gezeigt werden, dass eine Parodontitis durch lokale Gabe von IL-1 künstlich erzeugt werden konnte (Koide et al., 1995; Gaspersic et al., 2003; Pers et al., 2008). Die Inhibition des IL-1 Signalweges konnte eine deutliche Besserung der Symptome erreichen (Delima et al., 2001; Graves et al., 1998; Assuma et al., 1998; Papathanasiou et al., 2020). In der Summe zeigt sich die Schlüsselrolle von IL-1 bei der Parodontitis. Patienten mit

Polymorphismen am IL-1 Gen zeigen nicht nur häufiger eine stärkere Entzündungsreaktion, sondern eine höhere Neigung zu Parodontitiden (McDevitt et al., 2000; Galbraith et al., 1999; Brett et al., 2005).

Die Exposition von Keratinozyten der Mundhöhle mit pathogenen Keimen führt über die Aktivierung des NLRP3 Inflammasomkomplex zur Bildung von IL-1 β und indirekt zur Bildung und Sekretion von Chemokinen, NO Synthetase und MMPs, welche die intakte Zahnfleischbarriere schädigen (Dinarello, 2002; Groeger and Meyle, 2019). Exemplarisch konnte an menschlichen Chondrozyten gezeigt werden, dass IL-1 β über Prostaglandin E2 vermittelte Mechanismen die Expression von MMP2 verursacht (Choi et al., 2004).

Für die Destruktion der Knochenmatrix der Zahnfächer im Kiefer spielt IL-1 ebenfalls eine Hauptrolle. Das Zytokin fördert die Differenzierung von Osteoklasten und aktiviert diese (Pfeilschifter et al., 1989). Es wird angenommen, dass diese Aktivierung über „Receptor Activator Of NF κ B“ (RANK) und seinem Liganden RANKL abläuft, denn diese werden auch in der Mundhöhle ebenfalls über IL-1 β induziert (Hormdee et al., 2005; Brechter and Lerner, 2007; Helal et al., 2019; Zhuang et al., 2019; Hienz et al., 2015).

1.3 Pharmakologische Angriffspunkte im Interleukin-1-Signaltransduktionsweg

Durch die Schlüsselrolle von Interleukin-1 bei autoinflammatorischen Erkrankungen bietet die Hemmung des IL-1 Signalwegs eine erfolgsversprechende Möglichkeit der pharmakologischen Therapie von diversen inflammatorischen Krankheitsbildern. Hierbei kommen drei unterschiedliche Ansatzpunkte zur Anwendung: (1) Die Antagonisierung der Ausbildung eines aktiven IL-1 Rezeptor Komplexes durch eine rekombinant hergestellte Form des IL-1Ra (IL-1F3, Anakinra). (2) Ein neutralisierender humaner Antikörper gegen IL-1 β (Canakinumab). (3) Der Einsatz eines rekombinanten Ligandenfängers für IL-1 α und IL-1 β (Rilonacept) (vgl. Abbildung 4). Es gibt noch weitere gegen IL-1 oder dessen Produktion / Prozessierung gerichtete Wirkstoffe, die sich zurzeit in der Erprobung befinden. Hierzu gehören der NLRP3 Inhibitor Dapansutril (Kluck et al., 2020a), Antikörper gegen den IL-1R3 (MAB-R3) (Boraschi et al., 2019; Hojen et al., 2019) sowie Antikörper gegen IL-1 α (MABp1) (Hickish et al., 2017; Kanni



24

1.3.1 Zugelassene Wirkstoffe

1.3.1.1 Anakinra

Anakinra ist ein humaner gegen IL-1R1 gerichteter IL-1-Rezeptorantagonist (r-metHuIL-1ra). Dieser wird in *Escherichia coli*-Bakterien mittels rekombinanter DNA-Verfahren hergestellt. Anakinra ist in seiner Wirkung dem körpereigenen IL-1-Rezeptorantagonist nachempfunden. Anakinra bindet hochaffin an dem Rezeptor IL-1R1 und verhindert so die Interaktion von IL-1 α oder IL-1 β mit dem Rezeptor. Hierbei bleibt allerdings unklar, welchen Anteil die Hemmung der IL-1 α Aktivität und welchen Anteil die Hemmung der IL-1 β Aktivität auf die Wirksamkeit von Anakinra besitzt (Dinarello et al., 2012; Tarp et al., 2016; Abbate et al., 2020a). Die möglichen Verabreichungsarten sind subkutan und intravenös, wobei die intravenöse Applikation bei akuten Entzündungsgeschehen bevorzugt wird. Zugelassen ist das Pharmakon durch die Europäische Arzneimittel-Agentur (EMA) für RA, PFAPA, CAPS, FMF und das Still-Syndrom (https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kineret-epar-product-information_de.pdf; Stand 14.05.2020) (Wu et al., 2018; Ramirez and Canete, 2018). Zahlreiche weitere Zulassungsmöglichkeiten für Anakinra befinden sich noch in der Testphase (Navarro-Millan et al., 2020; Tombetti et al., 2020; Abbate et al., 2020b; Ebrahimi et al., 2019; Ikonomidis et al., 2019; Karakike and Giamarellos-Bourboulis, 2019; Van Tassell et al., 2018b; Van Tassell et al., 2018a; Ebrahimi et al., 2018) (vgl. Tabelle 2).

1.3.1.2 Canakinumab

Canakinumab ist IL-1 β -spezifischer humaner monoklonaler Antikörper (-mab). Er wird durch rekombinante DNA-Verfahren in murinen Myelomzellen Sp2/0 hergestellt. Die Idee an dieser Spezifität ist, dass IL-1 α weiterhin an der Immunabwehr beteiligt bleiben kann (Dinarello et al., 2012; Tarp et al., 2016). Canakinumab besitzt eine sehr lange Halbwertszeit im Körper und muss deswegen nur alle acht Wochen subkutan injiziert werden. Zugelassen ist das Pharmakon durch die EMA für PFAPA, CAPS, Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptor-assoziiertes periodisches Syndrom (TRAPS), HIDS/Mevalonatkinase-Defizienz (MKD), FMF, Still-Syndrom und Gichtarthritis (https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ilaris-epar-product-information_de.pdf; Stand 14.05.2020). Für den breiten klinischen Einsatz von

Canakinumab Therapeutika sind die Ergebnisse aus der schon erwähnten CANTOS Studie wegweisend (Ridker et al., 2017a).

1.3.2 Experimentelle oder nicht zugelassene Wirkstoffe

1.3.2.1 Rilonacept

Rilonacept ist ein lösliches artefizielles IL-1 Rezeptor Molekül, welches aus einem Fusionsprotein der Liganden bindenden Domänen der IL-1R1 und IL-1R3 Ketten besteht, die in einer einzelnen Polypeptidkette an den Fc Teil eines IgG1 Moleküls fusioniert werden. Rilonacept neutralisiert IL-1 α und IL-1 β , da es in absteigender Affinität an IL-1 β , IL-1 α und an IL-1Ra bindet (Abbate et al., 2020a; Dinarello et al., 2012). Es fungiert in der Rolle einer Ligandenfalle (*cytokine trap*) für IL-1 α /IL-1 β , bindet diese und verhindert so deren Signaltransduktion. Nach neuen Studien ist Rilonacept wirksam bei einer rezidivierenden Perikarditis (Fernandez-Ruiz, 2020; Tombetti et al., 2020). Rilonacept (Arcalyst®) ist in den USA zur Behandlung von CAPS zugelassen. Eine in der EU 2009 erteilte Zulassung mit *orphan-drug-status* wurde 2012 auf Antrag des Zulassungsinhabers wieder zurückgenommen. (https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/rilonacept-regeneron-epar-product-information_de.pdf; Stand 14.05.2020).

1.3.2.2 Gevokizumab

Gevokizumab ist, ähnlich wie Canakinumab, ein gegen IL-1 β spezifisch gerichteter monoklonaler Antikörper. Dieser Antikörper neutralisiert IL-1 β und unterbindet damit dessen Signalkaskade. Gevokizumab befindet sich derzeit in einer Phase 1 Studie und ist derzeit nicht zur Behandlung von Menschen zugelassen (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03798626>; Stand 14.05.2020) (Dinarello et al., 2012).

1.3.2.3 LY2189102

LY2189102 ist ebenfalls ein monoklonaler Antikörper, der spezifisch gegen IL-1 β gerichtet ist. Er bindet IL-1 β und hemmt dessen Wirkung. LY2189102 befindet sich gegenwärtig noch in einer Phase 2 Studie und ist somit derzeit nicht zur Behandlung von

Menschen zugelassen (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00942188>; Stand 14.05.2020) (Dinarello et al., 2012).

1.3.2.4 Bermekimab (MABp1)

MABp1 ist ein monoklonaler Antikörper, der spezifisch gegen IL-1 α gerichtet ist. Er bindet IL-1 α und unterbricht dessen Signaltransduktion. Bermekimab befindet sich gegenwärtig noch in einer Phase 2 Studie und ist somit derzeit nicht zur Behandlung von Menschen zugelassen (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03496974>; Stand 14.05.2020) (Dinarello et al., 2012).

1.3.2.5 MEDI-8968

MEDI-8968 ist ein monoklonaler Antikörper, der am IL-1R1 Rezeptor antagonistisch wirkt. Die Phase 2 Studie von MEDI-8968 wurde abgebrochen und folglich gibt es keine Zulassung zur Therapie von Menschen. (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01448850>; Stand 14.05.2020) (Dinarello et al., 2012).

1.3.2.6 CYT013

CYT013 ist ein therapeutischer Impfstoff für Diabetes Mellitus Typ 2 Patienten, der gegen IL-1 β gerichtet ist. Die letzten Informationen beschrieben eine Phase 1 Studie, folglich gibt es keine Zulassung zur Therapie von Menschen. (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00924105>; Stand 14.05.2020) (Dinarello et al., 2012).

1.3.2.7 sIL-1-R1

sIL-1R1 ist ein löslicher IL-1R1 Rezeptorabkömmling, der in absteigender Affinität an IL-1Ra, IL-1 α und an IL-1 β bindet. Er wird gentechnisch hergestellt und besteht aus extrazellulären Domänen des IL-1R1 Rezeptors. Er fungiert in der Rolle eines Köders für diese Proteine, bindet diese und verhindert so deren Signaltransduktion. Der letzte Stand war, dass die Zulassungsstudien eingestellt wurden (Dinarello et al., 2012).

1.3.2.8 sIL-1R2

sIL-1R2 ist ein technisch hergestellter löslicher IL-1R2 Abkömmling, der IL-1 β mithilfe von IL-1R3 (IL-1RAcP) bindet. Dieses Dimer bindet anschließend in absteigender Affinität an IL-1 β , IL-1 α und an IL-1Ra und verhindert so deren Signaltransduktion. Auch hier ist der letzte beschriebene Stand, dass die Zulassungsstudien eingestellt wurden (Dinarello et al., 2012).

1.3.2.9 EBI-005

EBI-005 ist ein chimäres Molekül, bestehend aus IL1RA und IL-1 β . Es wirkt als IL-1R Inhibitor. Es wurde zur Behandlung der Keratokonjunktivitis sicca entwickelt, allerdings wurde die Zulassung in einer Phase 3 Studie abgebrochen (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02405039>; Stand 14.05.2020) (Dinarello et al., 2012).

1.3.2.10 Belnacasan (VX-765)

VX-765 ist ein selektiver Caspase-1 Inhibitor. In einer Studie fanden sich Hinweise darauf, dass es die durch mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (PBMC) induzierte Freisetzung von IL-1 β hemmt (Li et al., 2019). Der letzte Stand bezieht sich auf eine Entwicklung im Phase 2 Status (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01501383>; Stand 14.05.2020).

Inhalt der Studien	Laufende klinische Studien	Klinische Studien in Phase III	Aktuelle Literatur
Interleukin-1 betreffend	3.168	199	s. u.
Anakinra	388	37	Dinarello et al., 2012; Tarp et al., 2016; Abbate et al., 2020a; Wu et al., 2018; Ramirez and Canete, 2018; Navarro-Millan et al., 2020; Tombetti et al., 2020; Abbate et al., 2020b; Ebrahimi et al., 2019; Ikonomidis et al., 2019; Karakike and Giamarellos-Bourboulis, 2019; Van Tassell et al., 2018b; Van Tassell et al., 2018a; Ebrahimi et al., 2018
Canakinumab	93	30	Dinarello et al., 2012; Ridker et al., 2017a; Everett et al., 2018; Everett et al., 2019; Ridker, 2019; Jansen and Janssen, 2019; Rothman et al., 2020; Ridker et al., 2018; Maffia and Guzik, 2019; Aday and Ridker, 2018; Abbate et al., 2020

Tabelle 2: Übersicht über die aktuellen klinischen Studien zu Interleukin-1.

In dieser Tabelle sind die laufenden klinischen Studien, die Interleukin-1 betreffen (d.h. IL-1 als Stichwort und als Studientyp klinische Studien aufweisen), aufgeführt. Die Anzahl an klinischen Phase III Studien ist gesondert aufgeführt. Die anti-IL-1 Therapeutika Anakinra und Canakinumab sind gesondert gelistet und wurden mit Beispielliteratur der aktuellen klinischen Studien hinterlegt. Quelle: clinicaltrials.org; Stand: 03.01.2021.

1.4 Die Interleukin-1 Signaltransduktion

IL-1 α und IL-1 β binden in der menschlichen Zelle mit einer ähnlichen Affinität an die beiden IL-1 Rezeptoren IL-1R1 und IL-1R2. Der funktionelle Rezeptor stellt dabei IL-1R1 dar, zusammen mit IL-1R3 (IL-1RAcP) bildet sich ein heterodimerer Komplex (O'Neill, 2008). IL-1 bindet auf der Oberfläche von Zielzellen an den IL-1R1, daraufhin wird IL-1R3 (IL-1RAcP) gebunden und es entsteht ein trimärer Signalkomplex. In diesem Komplex kommen die zytoplasmatischen Toll/IL-1R (TIR) Domänen des IL-1R1 und des IL-1R3 in räumliche Nähe und binden so das „Myeloid Differentiation Primary Response Gene 88“ (MYD88) (O'Neill, 2008), „Toll-Interacting Protein“ (TOLLIP) (Dinarello, 2009a) und „IL-1 Receptor-Associated Kinase 4“ (IRAK4) (Li et al., 2002a; Brikos et al., 2007; Weber et al., 2010b; Cohen, 2014; Weber et al., 2010a). Die Moleküle IL-1, IL-1R1, IL-1RAP, MYD88 und IRAK4 bilden einen stabilen Komplex (Brikos et al., 2007; Cohen, 2014), was zur Phosphorylierung der rezeptorassoziierten Kinasen IRAK1, IRAK2, IRAK4 und dadurch zur Rekrutierung und Oligomerisierung von „Tumor Necrosis Factor-Associated Factor 6“ (TRAF6) führt (Cao et al., 1996b; Cao et al., 1996a; Kawagoe et al., 2008). TRAF6 und die phosphorylierten IRAK1 und IRAK2 Proteinkinasen wandern zur Zellmembran um „TGF- β -Activated Kinase 1“ (TAK1) und die „TAK1 Binding Proteine 1 und 2“ (TAB1, TAB2) zu binden. Der TAK1/TAB1/TAB2/TRAF6 Komplex wandert wieder zurück ins Zytosol, wo TRAF6 (auto)ubiquitiniert und TAK1 phosphoryliert wird (Dinarello, 2009b; Acuner Ozbabacan et al., 2014; Weber et al., 2010a). An diesem Punkt gabelt sich der kanonische Signaltransduktionsweg in zwei Teile auf (Cohen et al., 2010). Im ersten Weg aktiviert phosphoryliertes TAK1 den trimeren „Inhibitor of Nuclear Factor Kappa-B Kinase Subunit“ (IKK) Komplex (bestehend aus IKK α / IKK β und IKK γ / NEMO), der wiederum den „Nuclear Factor Kappa-B Inhibitor“ (I κ B) phosphoryliert und so dessen proteasomalen Abbau verursacht. Dadurch wird der Transkriptionsfaktor „Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells“ (NF- κ B) freigesetzt und migriert in den Zellkern (Dinarello, 2009b; Turner et al., 2014; Acuner Ozbabacan et al., 2014;

Cohen et al., 2010). Im zweiten Weg aktiviert phosphoryliertes TAK1 als MAP3K die „Mitogen Activated Protein Kinase“ (MAPK) Signalwege p38, „c-Jun N-Terminal Kinase“ (JNK) und „Extracellular Signal-Regulated Kinase“ (ERK) durch Aktivierung von MAPK Kinasen (MAP2K). Weiter flussabwärts dieses Signalarms liegen über MAPK aktivierte Transkriptionsfaktoren wie c-Jun, c-Fos, c-Myc and ATF2 (Acuner Ozbabacan et al., 2014; Weber et al., 2010a; Cohen et al., 2010). Während des Signaltransduktionsweges spielt die Ubiquitinierung, insbesondere von I κ B α und NEMO, eine Schlotte, so sorgt die eine K48-Verlinkung von Ubiquitin für deren Degradation und eine K63-Verlinkung von Ubiquitin für deren Nondegradation (Weber et al., 2010a).

Der kanonische Signaltransduktionsweg führt zur Expression und Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen (O'Neill, 2008) und zu einer Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen, was u.a. zu einem Einstrom von Immunzellen ins Gewebe führt (Acuner Ozbabacan et al., 2014). Auf diesem Weg können IL-1 α und IL-1 β die Expression von hunderten Genen induzieren, darunter auch ihre eigenen im Rahmen einer positiven Feedbackschleife (Weber et al., 2010a; Cohen et al., 2010). Weiterhin gibt es auch einen nichtkanonischen Signaltransduktionsweg, bei dem durch intramembranöse Proteolyse des IL-1R1 eine lösliche extrazelluläre Domäne und eine zytosolische Domäne entsteht. Die intrazelluläre Domäne ist in der Lage, auf direktem Wege die Aktivierung von MAPK zu kontrollieren (Elzinga et al., 2009) (vgl. Abbildung 5).

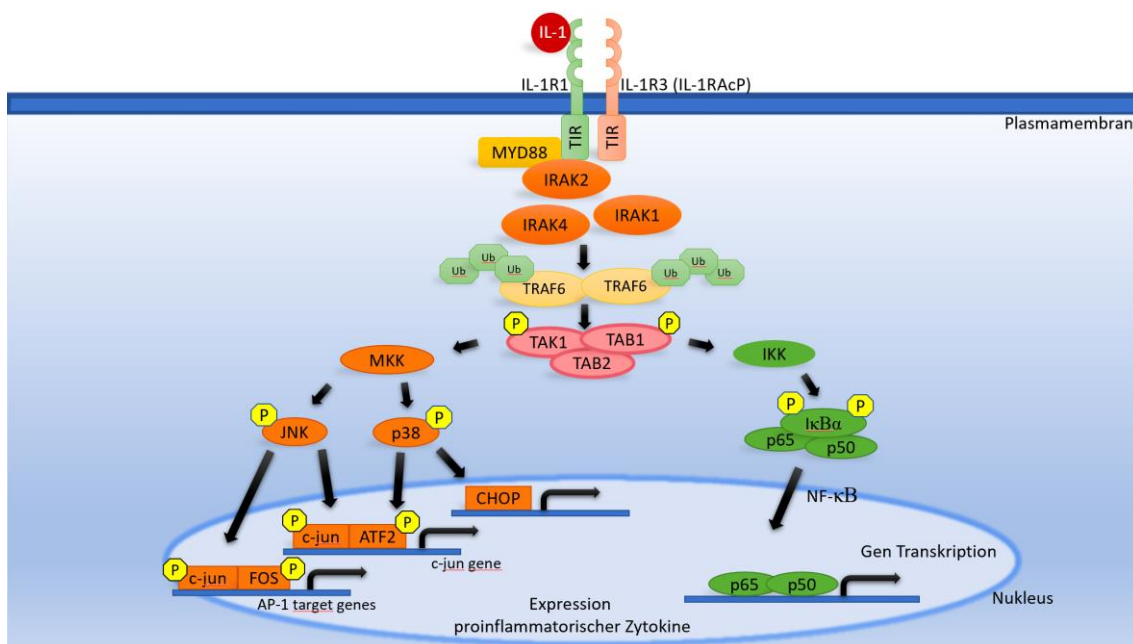


Abbildung 5: Eine schematische Darstellung des kanonischen Interleukin-1 Signaltransduktionsweges.

Adaptiert nach (Turner et al., 2014).

1.4.1 Das Konzept einer IL-1 Signaltransduktionskarte (aus der Dissertation von Peter Wasiliew)

Im Rahmen seiner Dissertation (von 2008 – 2013) untersuchte Peter Wasiliew in der AG Kracht verschiedene zusammenfassende Darstellungen des IL-1 Signalweges (im Folgenden Interleukin-1 Signaltransduktionskarten genannt), da bis zu diesem Zeitpunkt viele der verfügbaren Karten nur sehr schematisch oder unvollständig waren. Daher hat er auf Basis einer vorbestehenden öffentlich zugänglichen digitalen Signaltransduktionskarte und der dahinter liegenden kleinen Datenbank eine sehr umfangreiche neue Karte erstellt, in die er bis zum Stichtag 20.01.2010 hunderte hochwertige Originalarbeiten aus der Literatur implementiert hatte. Diese Literatur wurde gesichtet, bewertet, als Textbausteine extrahiert und in einer Datenbank zusammengefasst, welche anschließend digital visualisiert wurde. Zusätzlich wurden die kommentierten Einträge aus der Publikation (Weber et al., 2010a) mit integriert. Mit einem möglichst hohen Detailgrad über die molekularen Zusammenhänge und deren zeitlichen und räumlichen Abläufen sollte so der Grundstein gelegt werden, um in Zukunft präziser hochspezifische Therapieansätze im IL-1 System definieren zu können (Wasiliew, 2014).

1.5 Aufgabe- und Fragestellung

In dieser Dissertation sollte eine bereits bestehende IL-1 Signaltransduktionskarte mit dem dahinter liegenden interaktiven Wissensarchiv für den Zeitraum von 2011 bis 2018 aktualisiert und hinsichtlich einer Verwendbarkeit für die Projektion von Transkriptom- und Proteomdaten entwickelt und getestet werden. Hierzu sollte zunächst eine systematische Literaturrecherche zum Thema der IL-1 Signaltransduktion für den Zeitraum 2011-2018 durchgeführt werden. Die Informationen aus den experimentellen Daten der Originalarbeiten aus dieser Recherche sollten individuell gesichtet und bewertet, als Textbausteine extrahiert und in einer Datenbank zusammengeführt werden. Anschließend wurden diese Informationen in die IL-1-Signaltransduktionskarte eingefügt und detailliert graphisch visualisiert. Abschließend wurde die Frage untersucht, inwieweit

experimentell ermittelte Änderungen der IL-1 induzierten mRNA Expression und der IL-1-induzierten posttranslationalen Modifikationen Phosphorylierung, Ubiquitinierung und Acetylierung korrekt in der IL-1 Signaltransduktionskarte abgebildet werden, um die Hypothese zu testen, dass eine globale Kartierung der Dynamik intrazellulärer Regulationsvorgänge im IL-1 System inflammatorische Zustände verfeinert, kompletter und damit zukünftig individualisierter abbilden kann.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 In der Dissertation verwendete Software

Art	Softwareversion	Entwickler
Betriebssystem 1	Mac OS 10.15.3	Apple Inc.
Betriebssystem 2	Windows 10	Microsoft Corporation
Windows Virtualisierung	Parallels 15.1.4	Parallels International GmbH
Internet Browser 1	Safari 13.0.5	Apple Inc.
Internet Browser 2	Mozilla Firefox 75.0	Mozilla Foundation
Internet Browser 3	Microsoft Edge 44	Microsoft Corporation
Literaturverwaltung	Reference Manager 12	Thomson ResearchSoft
PDF-Tool 1	Acrobat Reader DC 2020	Adobe
PDF-Tool 2	Microsoft Edge 44	Microsoft Corporation
Textverarbeitung und Tabellen	Microsoft 365	Microsoft Corporation
Verarbeitung und Visualisierung biologischer Signaltransduktionswege	Path Visio 3.3.0	BiGCat Bioinformatics, Maastricht University
Texteditor	Notepad++ 7.7.1	Free Software Foundation Inc.
Runtime Environment	Java 8.0_247	Oracle
Visualisierung Signaltransduktion	Inkscape 0.92.4	Free Software Foundation Inc.

Tabelle 3: Verwandte Softwareversionen der vorliegenden Arbeit.

2.2 Die Strategie der Literaturrecherche

Grundlage war die in der Dissertation Wasiliew beschriebene Publikationsliste (Wasiliew, 2014). Zur Erweiterung einer bestehenden IL-1-Signaltransduktionskarte wurde eine Literaturrecherche durchgeführt, die über mehrere Schritte zu der finalen aktualisierten Publikationsliste führt. Es wurden Publikationen berücksichtigt, die zwischen dem 20.01.2010 und dem 01.11.2018 veröffentlicht wurden. Der 20.01.2010 wurde gewählt, weil es das Enddatum der Literaturrecherche der vorbestehenden IL-1-Signaltransduktionskarte markiert. Zunächst wurden die Schlagwörter zur Literaturrecherche definiert. Hierbei wurden folgende logische Verknüpfungen gewählt:

(IL-1 oder Interleukin 1 oder Interleukin-1) und Signaling

(IL-1 oder Interleukin 1 oder Interleukin-1) und Kinase

(IL-1 oder Interleukin 1 oder Interleukin-1) und Phosphorylation

(IL-1 oder Interleukin 1 oder Interleukin-1) und Protein Complex

(IL-1 oder Interleukin 1 oder Interleukin-1) und Signal Transduction.

Diese Schlagwörter mussten entweder im Titel oder im Abstract vorhanden sein. Mit Hilfe dieser Verknüpfungen konnte über das Programm *Reference Manager 12* eine Suche auf der Datenbank *PubMed* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> - Stand 01.11.2018) durchgeführt werden. Im ersten Schritt konnten so n = 713 Publikationen gefunden werden, die die obigen logischen Verknüpfungen erfüllen. Im zweiten Schritt wurden die Publikationen inhaltlich und thematisch überprüft. Daraufhin wurden noch n = 149 Veröffentlichungen in die engere Auswahl genommen und der Rest verworfen. Zu jeder der 149 Publikationen wurde der digitale Volltext in einer PDF Datei hinterlegt und den jeweiligen Ergebnissen in *Reference Manager* zugeordnet. Im dritten und finalen Schritt der Literaturrecherche wurden die Volltexte auf Güte und Inhalt überprüft. Die gewonnenen Daten wurden in einer Excel Datenbank gesammelt und somit für die vorliegende Arbeit verfügbar gemacht. Nach diesem Schritt blieben noch n = 91 Arbeiten übrig, von denen allerdings n = 25 aus systematischen Reviews bestanden und n = 67 Originalarbeiten waren. Somit gab es n = 67 Publikationen, die allen Anforderungen entsprachen und das finale Ergebnis der Literaturrecherche für diese Arbeit darstellen.

Die ausgewählten Arbeiten stellen Originalarbeiten dar, die ausreichend kontrollierte und somit hochwertige Informationen über die von IL-1-Rezeptoren aktivierten intrazellulären Signalkaskaden darstellen. Dazu wurden folgende Kriterien zur Positivselektion angewandt:

- IL-1-induzierte oder inhibierte posttranslationale Modifikationen von intrazellulären Proteinen. Eine beispielhafte Methode hierfür wären Immunoblots mit phosphorylierungsspezifischen Antikörpern.
- IL-1-induzierte oder inhibierte Assemblierung von Multiproteinkomplexen. Beispielhafte Methoden hierfür wären hochwertige Koimmunopräzipitationen

plus Immunoblot oder Nachweis/Identifikation der Proteine mittels Massenspektrometrie.

- Kausale Verknüpfung von Signalketten, mit Hilfe derer ein distal in dem Signalweg liegender Phänotyp aktiviert oder supprimiert wird. Beispielhafte Methoden hierfür wäre *knockdown/knockout* proximal von im Signalweg gelegenen Phänotypen.
- IL-1-induzierte Phänotypen, die durch Rekonstitution eines *knockdown/knockout*-Modells mit einer mutierten Variante des Proteins verändert werden. Beispielhafte Methoden hierfür wäre die Reexpression bestimmter Phänotypen bei vorherigem *knockdown/knockout*.

Folgende Kriterien wurden zur Negativselektion angewandt:

- Daten, die ausschließlich auf statistischen Korrelationen beruhen.
- Daten, die ausschließlich auf Überexpression von Phänotypen beruhen.

Hinsichtlich der untersuchten Modellsysteme oder Gewebetypen wurde ein genereller Fokus auf humanes oder murines epitheliales Gewebe gelegt, da Epithelien *in vivo* sehr gut und ubiquitär auf IL-1 reagieren.

2.3 Visualisierung recherchierter Daten aus der Literatur

Die gewonnen Daten über IL-1-Signaltransduktionswege aus den ausgewählten Publikationen wurden in einer Excel Datenbank zusammengefasst und strukturiert. Hierfür wurden diese systematisch gegliedert und aufbereitet. Bei diesem Arbeitsschritt wurden jedem neuen Molekül mit Hilfe des *world wide webs* auf der Seite <https://www.genecards.org> (Stichtag 01.11.2018) der zugehörige Genname und die in der Literatur bekannten, ebenfalls für das gleiche Gen gebrauchten alternativen Namen (Alias) hinterlegt. Die zugehörige numerische Genidentifikation im *Entrez Gene ID*-Standard (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>, Stichtag 01.11.2018) wurde in diese Datenbank übernommen. Dadurch konnten diese Daten ohne Informationsverlust mit dem Programm *PathVisio* visualisiert werden (vgl. *Kapitel 3.1.2.1*). Die bestehende IL-1-Signaltransduktionskarte wurde somit durch die Erkenntnisse aus der Literaturrecherche (vom 20.01.2010 bis 01.11.2018) erweitert und aktualisiert. Die graphischen Visualisierungen und die textlichen Informationen wurden entweder über einen *front-end*-Zugriff über *PathVisio* oder über einen *back-end*-Zugriff direkt im

Quelltext mit Hilfe des Texteditor-Programms Notepad++ programmiert. Dieses Vorgehen ist im Ergebnisteil durch entsprechende Screenshots dokumentiert.

2.4 Genomweite Daten zur IL-1-induzierten mRNA Expression

Die in dieser Arbeit verwendeten Microarray-Daten zur Bestimmung von Transkriptomen wurden in der AG Kracht generiert und sind bereits publiziert worden (Weiterer et al., 2020). Sie sind über das NCBI GEO Repository unter der Zugriffsnummer GSE134436 öffentlich verfügbar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>). Nachfolgend wird das methodische Vorgehen zur Erzeugung dieser genomweiten Datensätze zusammenfassend beschrieben. Der *Whole Human Genome Microarray 4x44K v2* (Agilent026652, Agilent Technologies), welcher das gesamte humane Transkriptom abdeckt, wurde in dieser Studie verwendet. cRNA wurde mit dem *Quick Amp Labeling kit, one-color* (#5190-0442; Agilent Technologies) aus Gesamt-RNA transkribiert. cRNA-Synthese, cRNA-Fragmentierung, Hybridisierung und Waschen wurden wie in der Anleitung *One-Color Microarray-Based Gene Expression Analysis (Quick Amp Labeling)* (Agilent Technologies, G4140-90040 v5.7) empfohlen durchgeführt. Die Objektträger wurden auf einem aufgerüsteten Agilent Microarray Scanner G2565 CA mit einer Pixelauflösung von 5 μm und einer Bittiefe von 20 gescannt. Die Datenextraktion wurde mit der *Feature Extraction Software* V10.7.3.1 unter Verwendung der Standard-Extraktionsprotokolldateien "GE1_107_Sep09.xml" durchgeführt. Die extrahierten Daten wurden als Einzelfarben-Experimente in die *GeneSpring GX* V12.0 Software (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA) importiert. Die Daten wurden in *GeneSpring GX* log₂-transformiert und quantil-normalisiert. Niedrige anti-log-transformierte Werte wurden auf 13 angehoben, was dem Mittelwert aller Sonden entsprach, die von der *Feature Extraction Software* als *not detected* gekennzeichnet wurden. Im Falle mehrerer Agilent-Sonden für dasselbe Gen wurde die Sonde mit der höchsten mittleren Intensität ausgewählt. Insgesamt wurden 21.765 Sonden auf dem Array einer *Entrez Gene ID* zugewiesen. Davon wurden 14.204 Gene als exprimiert bestimmt, wenn sie einen Gesamtmittelwert von mindestens 50 anti-log-transformierten Fluoreszenzeinheiten aufwiesen und in mindestens 50% der Proben detektiert wurden (*Feature Extraction Software Flag detected*). Um den Effekt von IL-1 α in den Kontrollzelllinien zu analysieren, wurden differenziell exprimierte Gene mit Hilfe des moderierten t-Tests der *GeneSpring GX* V12.0 Software gegen die

unbehandelten Vektorkontrollen identifiziert. Ratio-Werte mit einem P-Wert $< 0,05$ und > 3 -fache Veränderungen wurden als signifikante Genexpressionsveränderungen angesehen. Die solchermaßen generierten und bioinformatisch prozessierten Daten wurden in dieser Promotion verwendet, um mRNA Expressionswerte auf die IL-1 Signaltransduktionskarte zu übertragen.

2.5 Proteomweite Daten zur IL-1-induzierten Phosphorylierung, Ubiquitinierung und Acetylierung

Die in dieser Arbeit verwendeten bisher unpublizierten massenspektrometrischen Daten zur Bestimmung von posttranslational veränderten Proteomen wurden in der AG Kracht in Zusammenarbeit mit der Firma Cell Signaling Technology (CST), Danvers, Massachusetts, USA, generiert. Hierbei wurden die Zellextrakte in der AG Kracht erzeugt. Der tryptische Verdau und die Aufreinigung der modifizierten Peptide und deren massenspektrometrische Analyse sowie die Zusammenstellung der Messdaten erfolgte durch Cell Signaling Technology und die weiterfolgende bioinformatische Analyse dann wiederum in der AG Kracht. Nachfolgend wird das methodische Vorgehen zur Erzeugung dieser proteomweiten Datensätze zusammenfassend beschrieben. Zur Analyse des Phosphoproteoms wurden für jede Probe HeLa-Zellen auf 5 Schalen (145-mm-Durchmesser) bis zu 80% Konfluenz kultiviert. Die Zellschalen wurden entweder nicht behandelt oder für 5, 30, 60, 180 und 360 Minuten mit IL-1 α stimuliert. In die Visualisierung der Ergebnisse für modifizierte Proteine auf der IL-1 Karte flossen nur die Experimente mit 30, 60 und 360 Minuten ein. Nach der Behandlung wurde zweimal mit 15 ml eiskaltem PBS (ohne Ca/Mg) gewaschen und nach Zugabe von frischem Harnstoff-Lysepuffer direkt auf der Schale (20 mM HEPES [pH 8], 9 M Harnstoff, 1 mM aktiviertes Natriumorthovanadat, 2,5 mM Natriumpyrophosphat, 1 mM -Glycerinphosphat) lysiert. Die Zellen wurden vorsichtig, ohne zu schäumen, resuspendiert und die Extrakte wurden mit einem Branson-Gerät für 4 mal 30 s beschallt. Die verschiedenen Extrakte aus den 10 Schalen pro Bedingung wurden gepoolt und für 15 min bei 4°C und 20.000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde entnommen, die Proteinkonzentration mit einem Bradford-Assay bestimmt und ein Aliquot für eine Probenvalidierung mittels Western Blot verwendet. Danach erfolgte der Transfer zu Cell Signaling Technology.

Die Proben wurden dort zunächst bei 55°C mit 4,5 mM Dithiothreitol für 30 min reduziert, gefolgt von einer Alkylierung mit Iodacetamid (19 g/Liter H₂O) für 15 min im

Dunkeln bei Raumtemperatur. Nach 1:4-Verdünnung mit 20 mM HEPES (pH 8,0) wurden die Proteine über Nacht mit 10 g/ml Trypsin-TPCK (Tolylsulfonylphenylalanylchloromethylketon) verdaut. Die verdauten Peptide wurden mit 1 % Trifluoressigsäure (TFA) angesäuert und über 360-mg *Sep Pak Classic* C₁₈-Säulen (Katalognummer WAT051910; Waters, Milford, MA) entsalzt. Die Elution der Peptide erfolgte mit 40 % Acetonitril in 0,1 % TFA, gefolgt von einer Trocknung unter Vakuum.

Zur Anreicherung von phosphorylierten Peptiden wurden 500 µg des Extrakts der sogenannten *immobilized metal affinity chromatography* (IMAC) unterzogen. Hierbei interagieren in IMAC-Säulen immobilisierte Fe³⁺ mit den negativ geladenen Phosphatgruppen der Phosphopeptide wobei alle Formen der Phosphorylierung an Serin-, Threonin- und Tyrosin-Resten angereichert werden.

Die Anreicherung von acetylierten oder ubiquitinierten Peptiden erfolgte dagegen durch Inkubation der Peptidgemische mit an Matrices immobilisierte hochspezifische Antikörper, welche entweder ein acetyliertes Lysin (*Lysine acetylation antibody* #13420, CST) oder die beiden C-terminalen Glycinreste erkennen, welche nach der tryptischen Abspaltung einer kovalent verknüpften Ubiquitinkette von dem epsilon Kohlenstoffatom eines Lysins übrig bleiben (Ubiquitin remnant antibody #3925, CST).

Mit diesen Proben wurde eine HPLC-Massenspektrometrie-gekoppelte Analyse (LC-MS/MS) mit einem *LTQ-Orbitrap-Velos*-Massenspektrometer mit ESI-CID durchgeführt. Die Peptide wurden direkt auf eine *PicoFrit*-Kapillarsäule (10 cm x 75 µm) geladen, die mit Magic C₁₈ AQ-Umkehrphasenharz präpariert ist. Die Säule wurde unter Verwendung eines 150-minütigen linearen Gradienten aus Acetonitril in 0,125 % Ameisensäure bei 280 nl/min entwickelt. Die MS-Parametereinstellungen waren wie folgt: MS-Laufzeit 96 min; MS1-Scanbereich 300,00 bis 1.500,00; und Top 20 MS/MS (Min-Signal 500; Isolationsbreite 2,0; normalisierte gesammelte Energie 35,0; Aktivierungs-Q 0,250; Aktivierungszeit 20,0; Lock-Masse 371.101237; Ladungszustandsunterdrückung aktiviert; Ladungszustand 1 zurückgewiesen; dynamischer Ausschluss aktiviert; Wiederholungsanzahl 1; Wiederholungsdauer 350; Ausschlusslistengröße 500; Ausschlussdauer 40,0; Ausschlussmassenbreite relativ zur Masse; Ausschlussmassenbreite 10 ppm). Die MS/MS-Spektren wurden mit SEQUEST ausgewertet (Eng et al., 1994; Tabb, 2015). Jede Probe wurde zweimal nicht-sequenziell auf dem Gerät ausgeführt, sowohl um die Anzahl der Identifikationen zu maximieren als

auch um eine Grundlage für die Messung der analytischen Reproduzierbarkeit auf dem Gerät zu schaffen. Für jedes identifizierte Peptid wurden %CV-Werte (prozentualer Variationskoeffizient) generiert, indem die Standardabweichung der Replikat-Peakflächenmessungen durch die durchschnittliche Peakfläche dividiert und in Prozent umgerechnet wurde.

Einige Peptide wurden aufgrund von Sequenzidentität mehr als einem Protein zugeordnet. Es wurde nicht versucht, diese Fälle auf ein einzelnes Protein aufzulösen, da es in Ermangelung weiterer Kriterien unmöglich ist, das Peptid eindeutig einer bestimmten Protein-Isoform zuzuordnen. Die Modifikationsstellen werden so angegeben, wie sie bei der SEQUEST-Suche ermittelt wurden. Für jedes Peptid wurden die Stellenlokalisierungs-Scores (AScore) berechnet. Score-Werte von 13 wurden als ausreichend sicher angesehen, um eine Modifikation korrekt zuzuordnen (Beausoleil et al., 2006).

Die Suche wurde in der Proteindatenbank NCBI *Homo sapiens* Version 2014 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein>) mit einer Massengenauigkeit von 50 ppm für Vorgängerionen und 1 Da für Produktionen durchgeführt. Die Ergebnisse wurden mit einer Massengenauigkeit von 5 ppm auf Vorläuferionen und das Vorhandensein des beabsichtigten Peptidmotivs gefiltert. Eine Standard-Falsch-Positiv-Rate von 5 % wurde zum Filtern der SEQUEST-Ergebnisse verwendet. Jede Probe wurde zweimal in separaten MS/MS-Läufen gemessen. Die Veröffentlichung der Rohdaten dieser Analyse auf ProteomeXchange oder einer vergleichbaren Datenbank ist geplant. Derzeit sind die Daten nicht öffentlich zugänglich.

Die weitere Auswertung und Aufbereitung der Daten zur Projektion von Intensitätswerten der einzelnen aus den Peptiden abgeleiteten modifizierten Proteine wurde von Dr. Axel Weber, AG Kracht, mit Microsoft Excel 2010-2016 und selbst erstellten R-Skripten (R Core Team, 2017; <https://www.R-project.org/>) durchgeführt. Die Mengendiagramme in Abbildung 20 wurden mit dem *Venn diagram web tool* der Universität Ghent, Belgien (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn>) erstellt.

3 ERGEBNISSE

3.1 Schrittweises Vorgehen zur Erweiterung einer erweiterten Signaltransduktionskarte für das proinflammatorische Zytokin Interleukin-1

Die Dissertation gliedert sich in mehrere Abschnitte. Zunächst wurde eine systematische Literaturrecherche zum Thema IL-1 Signaltransduktion durchgeführt. Die Informationen der Publikationen aus dieser Recherche wurden extrahiert und in einer Datenbank gesammelt. Anschließend wurden diese Daten in die IL-1-Signaltransduktionskarte eingefügt und visualisiert. Zum Schluss wurden geeignete, in der AG Kracht erzeugte *deep sequencing* Proteom- und Transkriptomdaten genutzt und auf die in dieser Dissertation modifizierte IL-1-Signaltransduktionskarte projiziert.

3.1.1 Zusammenstellung der ausgewählten Publikationen und ihres Informationsgehalts zu Komponenten des IL-1 Signalwegs

Wie in *Kapitel 2.2* beschrieben, wurden aus den anfänglich $n = 703$ Publikationen insgesamt $n = 67$ Originalarbeiten extrahiert, die die beschriebenen Kriterien hinreichend erfüllten. Aus diesen Originalarbeiten konnten wiederum $n = 189$ Informationen zu IL-1 kontrollierten Signaltransduktionsereignissen gewonnen werden. Davon waren $n = 123$ neue Erkenntnisse, $n = 65$ Informationen konnten bis dato bestehende Erkenntnisse bestätigen und erweitern oder widerlegen. Aufgrund der Fokussierung der IL-1-Signaltransduktionskarte auf menschliches Gewebe bzw. Gewebe von Säugetieren wurden weitere $n = 3$ Informationen zwar in die Datenbank übernommen, allerdings graphisch nicht in der Karte visualisiert und somit nicht mitgezählt, da sie aus Drosophilagewebe gewonnen wurden (Papagianni et al., 2018).

Die Ergebnisse der Literaturrecherche wurden in einer Excel Datenbank zusammengefasst. Hierfür wurden die gewonnen Informationen in Gruppen unterteilt. Diese beinhalteten zum einen Informationen zu den Molekülen selbst in Form von Kommentaren und zum anderen Informationen über deren Interaktionen. Diese wiederum wurden in physikalische Interaktionen, enzymatische Katalyse, Transportvorgänge und widerlegte Reaktionen unterteilt, entsprechend dem bisherigen Schema der Karte (Kandasamy et al., 2010; Wasiliew, 2014). Als widerlegte Reaktionen wurden

Reaktionen gewertet, wenn sie nach neueren wissenschaftlichen Erkenntnissen verändert ablaufen oder nicht ablaufen.

Molekülinformationen oder Molekülkommentare sind Informationen, die über eine Eigenschaft des Moleküls Aufschluss geben, aber nicht einer bestimmten Interaktion oder Reaktion mit einem anderen Molekül zugeordnet werden können. Insgesamt konnten $n = 115$ Molekülkommentare erhoben werden. Diese bestehen aus $n = 69$ neuen Erkenntnissen, aus $n = 46$ bereits bestehenden und damit weiter bestätigten Erkenntnissen. Zusätzlich wurde $n = 1$ Ergebnis nicht implementiert.

Physikalische Interaktionen sind Informationen, die über physikalische Wechselwirkungen zwischen dem Molekül (Protein) und anderen Proteinen, DNA und (m)RNA Aufschluss geben. Hierzu werden z.B. auch Dissoziationen von Proteinkomplexen gezählt, vorausgesetzt die Dissoziation ist Resultat zuvor erfolgter physikalischer Wechselwirkungen. Die physikalischen Interaktionen beziffern sich auf insgesamt $n = 34$ Informationen. Diese bestehen aus $n = 20$ neuen Erkenntnissen, aus $n = 14$ bestehenden und damit weiter bestätigten Erkenntnissen. Zusätzlich wurde $n = 1$ Ergebnis nicht implementiert. Dieses Ergebnis wurde aufgrund des benutzten Gewebeursprungs zwar in die Datenbank aufgenommen, allerdings nicht in der Karte visualisiert und somit nicht mitgezählt.

Enzymatische Katalysen sind Informationen, die über katalytische Wechselwirkungen zwischen den Proteinen und deren Substraten, wie z.B. Phosphorylierung, Dephosphorylierung und Ubiquitinierung, Deubiquitinierung etc. Aufschluss geben. Insgesamt konnten $n = 35$ Informationen über enzymatische Katalysen gesammelt werden. Diese bestehen aus $n = 31$ neuen und aus $n = 4$ bestehenden und damit weiter bestätigten Erkenntnissen.

Transportvorgänge sind Informationen, die über die räumliche Verschiebung (Translokation) einzelner Proteine oder deren Komplexen Aufschluss geben. Hierbei werden sowohl Verschiebungen über die Zellgrenze hinweg als auch die Verschiebung innerhalb biologischer Zellkompartimente berücksichtigt. Insgesamt konnten $n = 4$ Informationen über Transportvorgänge gewonnen werden. Diese lassen sich in $n = 3$ neuen Erkenntnissen, aus $n = 1$ bestehender und damit weiter bestätigter Erkenntnis unterteilen. Weiterhin wurde in die Datenbank $n = 1$ nicht implementierte Erkenntnisse übernommen, aber daher nicht mitgezählt.

Daten, die auf älteren Erkenntnissen bzw. Literaturrecherchen basieren, wurden überprüft. In der neueren Literatur (zwischen 20.01.2010 und 01.11.2018) widerlegte Reaktionen wurden berücksichtigt, korrigiert und somit dem aktuellen Wissenstand angepasst. Hierbei konnte $n = 1$ Reaktion entsprechend bearbeitet werden.

In Tabelle 3 sind die Entwicklungsstufen der IL-1 Karte, ausgehend von der ursprünglichen Version von *NetPath* (http://www.netpath.org/netslim/IL_1_pathway.html Stand 20.01.2010), über die in der Dissertation Wasiliew dargestellte Version bis hin zu der dritten Entwicklungsstufe einer IL-1-Signaltransduktionskarte in dieser Arbeit (Stichtag 01.11.2018) dargestellt (Kandasamy et al., 2010; Wasiliew, 2014) (vgl. Tabelle 4).

	NetPath 20.01.2010	Wasiliew 08.03.2013	Bleymehl 18.09.2020	IL-1- Signaltransduktionskarte 18.09.2020
Publikationen	75	428	67	570
Physikalische Interaktionen	55	309	34	398
Enzymatische Katalyse	28	175	35	238
Transport	9	31	4	44
Reaktionen (gesamt)	92	515	73	680
Proteine	57	146	56	259
Splice-Formen von Proteinen	-	3	1	4
Zielgene	-	40	21	61
mRNAs	-	10	1	11
Moleküle (gesamt)	57	199	79	335
Molekülkommentare	92	676	115	883
widerlegte Reaktionen	-	-	1	1

Tabelle 4: Überblick über die deskriptive Statistik der vorherigen Entwicklungsstufen bis hin zur aktuellen IL-1-Signaltransduktionskarte (Stichtag der Literaturrecherche 01.11.2018).

In Abbildung 6 sind die Beiträge der Autoren Wasiliew und Bleymehl zu der finalen Entwicklungsstufe der IL-1 Signaltransduktionskarte farblich auf der Ebene der einzelnen Komponenten visualisiert.

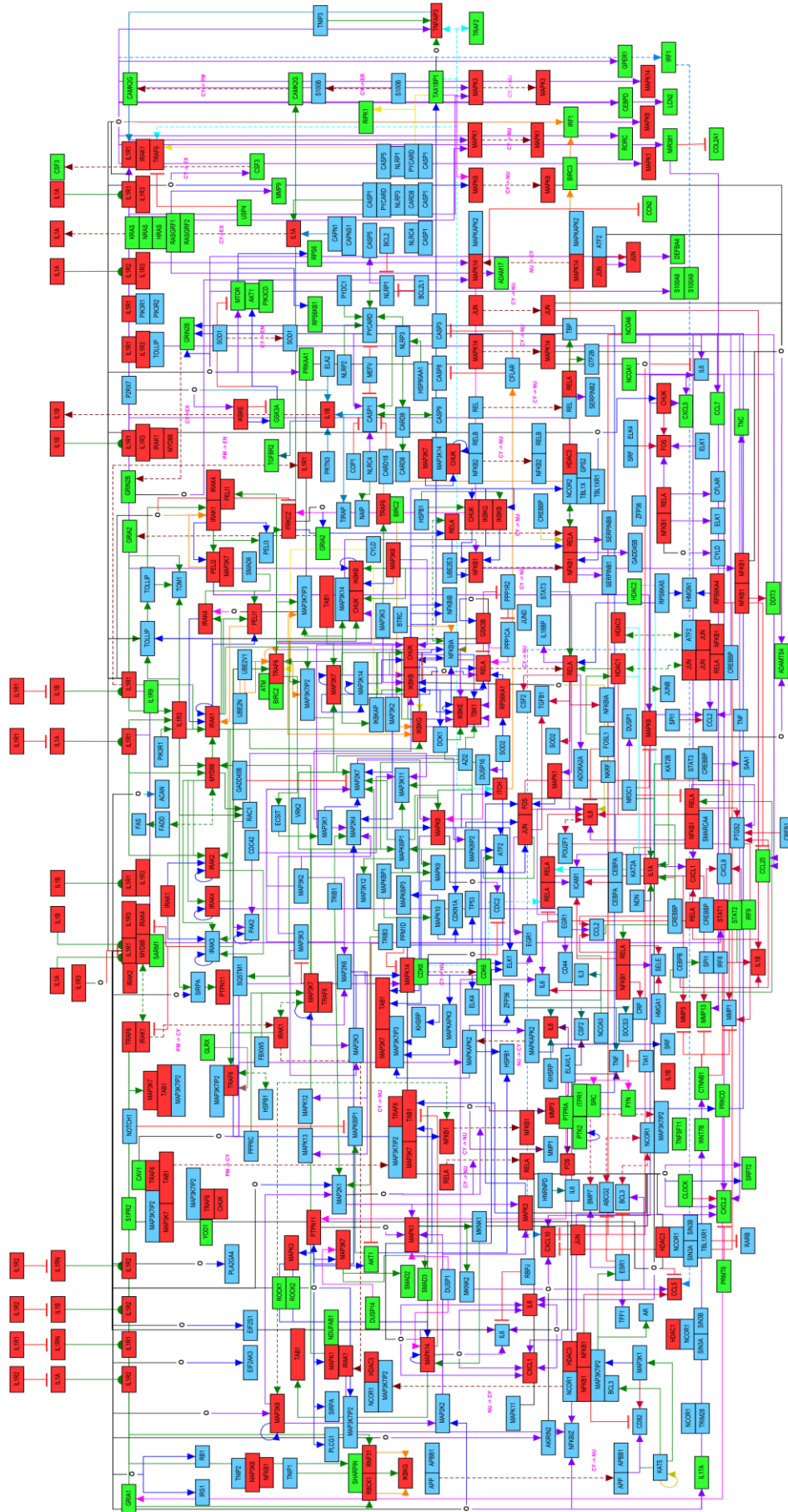


Abbildung 6: Visualisierte Übersicht des Beitrages der Autoren zu der IL-1-Signaltransduktionskarte.

Die Boxen stellen einzelne Signalkomponenten (Moleküle) dar, Interaktionen sind mittels Linien visualisiert. Komponenten, die von Peter Wasiliew erstellt wurden, sind hellblau markiert, Komponenten, die von Moritz Bleymehl hinzugefügt wurden, sind grün markiert und rote Farben kennzeichnen Komponenten, zu denen beide Autoren Informationen beigetragen haben.

3.1.2 Graphische Visualisierung und Implementierung der gesammelten Daten über den IL-1 Signalweg in einem virtuellen Netzwerk

3.1.2.1 Die IL-1-Signaltransduktionskarte

Die graphische Darstellung der IL-1-Signaltransduktionskarte setzt sich aufgrund mehrerer Entwicklungsschritte aus einer ansteigenden Anzahl an Informationen zusammen. Dadurch steigt nicht nur die Komplexität der Datenbank sondern auch die der Visualisierung. Die initiale, aus wenigen Signalmolekülen bestehende bereits visualisierte IL-1-Signaltransduktionskarte stand auf der Internetplattform NetPath zur Verfügung (vgl. Kapitel 3.1.1) (Kandasamy et al., 2010). Peter Wasiliew entwickelte diese aus einer Literaturrecherche systematisch weiter und visualisierte die hieraus gewonnen Erkenntnisse im Rahmen seiner Dissertation (Wasiliew, 2014). Hierfür wurde die Software PathVisio verwendet (van Iersel et al., 2008). Zusammen mit den auf der Internetplattform

WikiPathways

(<http://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP195> Stand: 20.01.2010) vorhandenen Informationen wurden die einzelnen Bestandteile der Karte strukturiert weiterentwickelt und mit neuen Erkenntnissen versehen (Pico et al., 2008). Die Resultate daraus stellen wiederum die Grundlage der vorliegenden Arbeit dar und werden im Folgenden anhand Ihrer Darstellung im Programm *PathVisio* beschrieben.

Die grundlegende Struktur der IL-1-Signaltransduktionskarte besteht aus Molekülen und deren Interaktionen untereinander. Moleküle werden in einem rechteckigen Rahmen dargestellt und sind mit ihren Gennamen beschriftet. Die Rahmen können verschiedene Farben besitzen, so stellen z.B. schwarze Rahmen die Proteine, grüne Rahmen die mRNAs, rote Rahmen die IL-1 Zielgene und blaue Rahmen die lösliche Variante der membrangebundenen Proteine dar. Kästen, die direkt angrenzend nebeneinander visualisiert werden, stellen (Multi)Proteinkomplexe dar, also räumlich zusammenhängende funktionelle Ansammlungen zweier oder mehrerer Proteine. Moleküle, die eine Rezeptorfunktion an der Zelloberfläche erfüllen, sind aus didaktischen Gründen gemäß des Schlüssel-Schloss-Prinzips von Rezeptoren und Liganden mit einem

leeren Halbkreis und dem Molekülkasten dargestellt. Analog dazu werden Liganden mit einem voll ausgefüllten Kreis an dem Molekülkasten dargestellt (vgl. Abb. 7).

Ähnlich verhält es sich mit den Verbindungen zwischen den Kästen. Diese stellen Interaktionen der Moleküle untereinander dar. Diese Verbindungen sind farblich codiert, so stellen z.B. gelbgrüne Pfeile Acetylierungen, türkisblaue Pfeile Deacetylierungen, marineblaue Pfeile Phosphorylierungen und rosa Pfeile Dephosphorylierungen dar. Hierbei geben die Pfeilspitzen die Verlaufsrichtung der Interaktion an, d.h. stellen dar, wie ein Molekül ein anderes Molekül beeinflusst. Protein-Protein Assoziationen wurden mit einem grünen Pfeil und Protein-DNA-Assoziationen werden mit einem roten Pfeil dargestellt. Dementsprechend werden Dissoziationen mit einem in entgegengesetzte Richtungen zeigenden gestrichelten Doppelpfeil symbolisiert. Protein-Protein-Dissoziationen werden grün und Protein-DNA-Dissoziationen rot dargestellt. Ebenfalls als gestrichelte Pfeile wurden die Interaktionen, die mit räumlichen Veränderungen einhergehen, dargestellt. So wurden z.B. Translokationen braunrot, Kontrollmechanismen blau und Verstärkermechanismen türkisblau verbildlicht. Reaktionen, die über unbekannte Zwischenschritte verlaufen, beginnen mit einem schwarzen Strich und mit einem O, um dann in den farbcodierten Reaktionspfeil überzugehen. Interaktionen, welche ein Molekül mit sich selbst zeigt, werden nicht nur farbcodiert, sondern auch formcodiert. Beispielsweise wird der Pfeil von Autophosphorylierungen blau und auf sich selbst zurückzeigend dargestellt, ähnlich dem Pfeil von Autoacetylierungen, der gelbgrün und auf sich selbst zurückzeigend verbildlicht wird. Inhibitionen sind mit einem roten, liegenden T gekennzeichnet (vgl. Abb. 7).

Gehen die Translokationen der einzelnen Moleküle über biologische Zellkompartimente hinweg, so wird das mit rosafarbenen Buchstaben an den Pfeilen dargestellt, die den Ausgangs- und Endpunkt der Translokation beschreiben. So stehen z.B. CY für Zytosol, EC für Extrazellularraum, EN für Endosom, GO für Golgi-Apparat, MT für Mitochondrium, NU für Nucleus, PM für Plasmamembran und ER für Endoplasmatisches Retikulum (vgl. Abbildung 7).

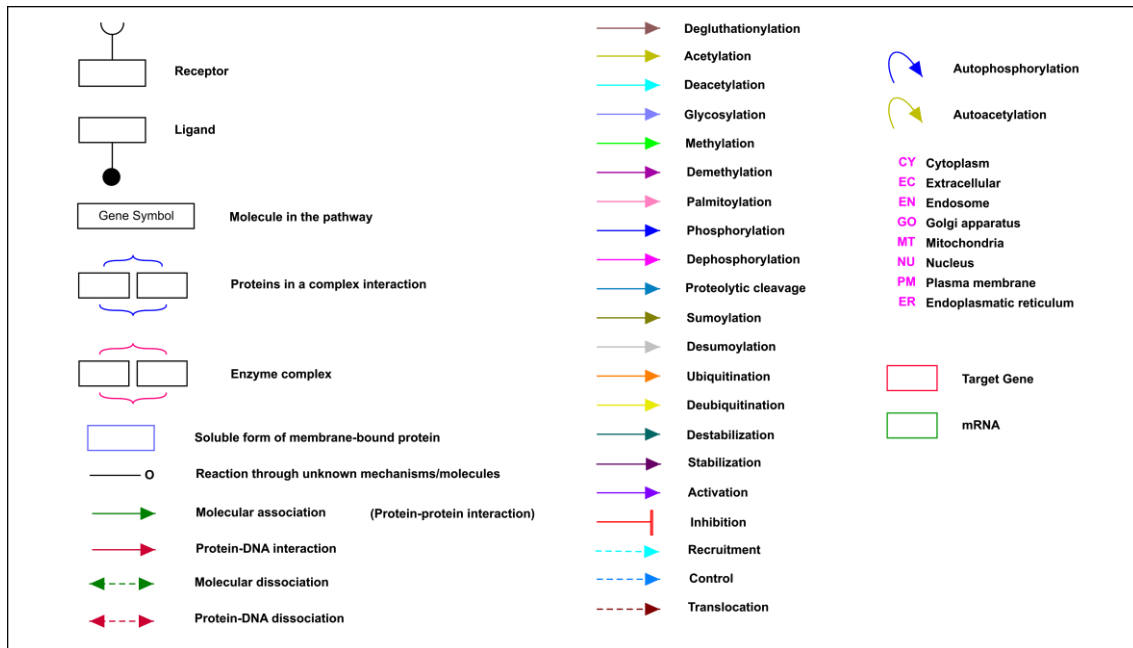


Abbildung 7: Die Legende der IL-1-Signaltransduktionskarte in der Übersicht.

Die Pfeile sind, wie in der Legende detailliert beschrieben, farbcodiert und zeigen dadurch unterschiedliche Reaktionen an. Ein Pfeil mit einem schwarzen Strich und einem schwarzen O stellt eine Reaktion mit unbekannten Zwischenschritten dar. Schwarze Kästen geben das betreffende Protein an. Blaue Kästen stellen eine lösliche Version eines membrangebundenen Moleküls dar. Rote Kästen zeigen Zielgene an und grüne Kästen zeigen mRNAs an. Rosa Großbuchstaben geben die Zellorganellen wieder, welche bei einer Translokation durchlaufen werden. Für weitere Details siehe Text.

Alle Moleküle und Interaktionen wurden aufgrund sorgfältig ausgewählter Informationen aus Originalpublikationen in die IL-1-Signaltransduktionskarte übernommen. Um diesen Schritt nachvollziehbar und überprüfbar zu gestalten, wurden alle diese Informationen auch in der Karte selbst interaktiv verfügbar gemacht. Bei jedem Molekül und jeder Interaktion wurden die Informationen in Form eines Kommentars aus der Originalarbeit und eines Literaturverweises hinterlegt. Diese Daten werden mit einem Doppelklick mit der linken Maustaste auf das entsprechende Molekül angezeigt. Die Literaturverweise enthalten einen aktiven Link zu der jeweiligen Publikation in der Datenbank *PubMed*. Auf diese Weise lassen sich einzelne Sachverhalte direkt in der Originalliteratur nachverfolgen und überprüfen. Die Kommentare geben standardisiert Aufschluss über den Erstautor, das Publikationsjahr, Inhalt und genutztes Modellsystem bzw. Gewebe. Aufgrund des hohen Detailgrades der Darstellung mussten einige Moleküle mehrfach angelegt werden und mit jeweils anderen Reaktionen versehen werden. Auch kommt es häufiger vor, dass Moleküle in mehreren Zellkompartimenten gleichzeitig vorliegen und/oder zum Teil an verschiedenen Orten verschiedene Aufgaben besitzen. Daher

wurden diese Moleküle mit allen Kommentaren und Literaturverweisen versehen, die über dieses Molekül in der gesamten IL-1-Signaltransduktionskarte zur Verfügung stehen. So wird sichergestellt, dass die Merkmale einfach gefunden werden können, ohne unnötige Redundanz zu schaffen. Das gesuchte Molekül wird über die Suchfunktion farblich hervorgehoben, hierbei sind auch die mögliche Mehrfachanlagen sichtbar (vgl. Abbildung 8).

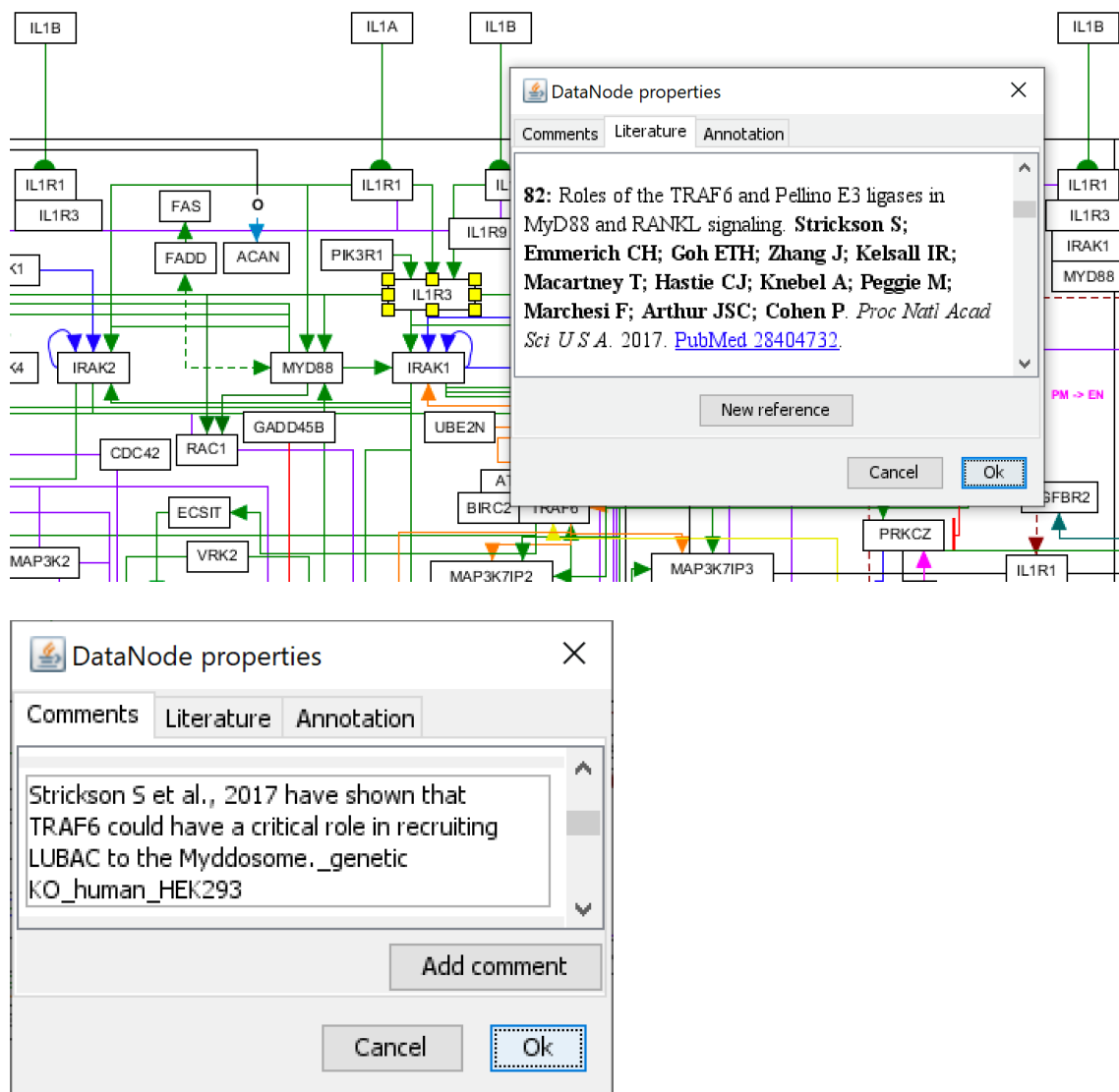


Abbildung 8: Beispielhafte Ansicht der hinterlegten Informationen zu den jeweiligen Molekülen.

Mit einem Doppelklick mit der linken Maustaste auf den Kasten des Moleküls lassen sich die *DataNode properties* darstellen. Hier finden sich die gesamten Kommentare eines Moleküls, die durch Literaturrecherchen gewonnen wurden. Die Kommentare geben standardisiert Aufschluss über den Erstautor, das Publikationsjahr, Inhalt und Modellsystem bzw. Gewebe. Unter dem Reiter Literatur finden

sich die dazugehörigen Literaturverweise mit einem aktiven Link zur Originalpublikation in der Datenbank *PubMed*. Das ausgewählte Molekül wird am Start- und Endpunkt mit gelben Quadraten markiert.

Die Literaturkommentare und -verweise der Reaktionen können ebenfalls über einen Doppelklick mit der linken Maustaste dargestellt werden. Dadurch wird auch hier sichergestellt, dass die Reaktionen nachvollziehbar und überprüfbar sind (vgl. Abbildung 9).

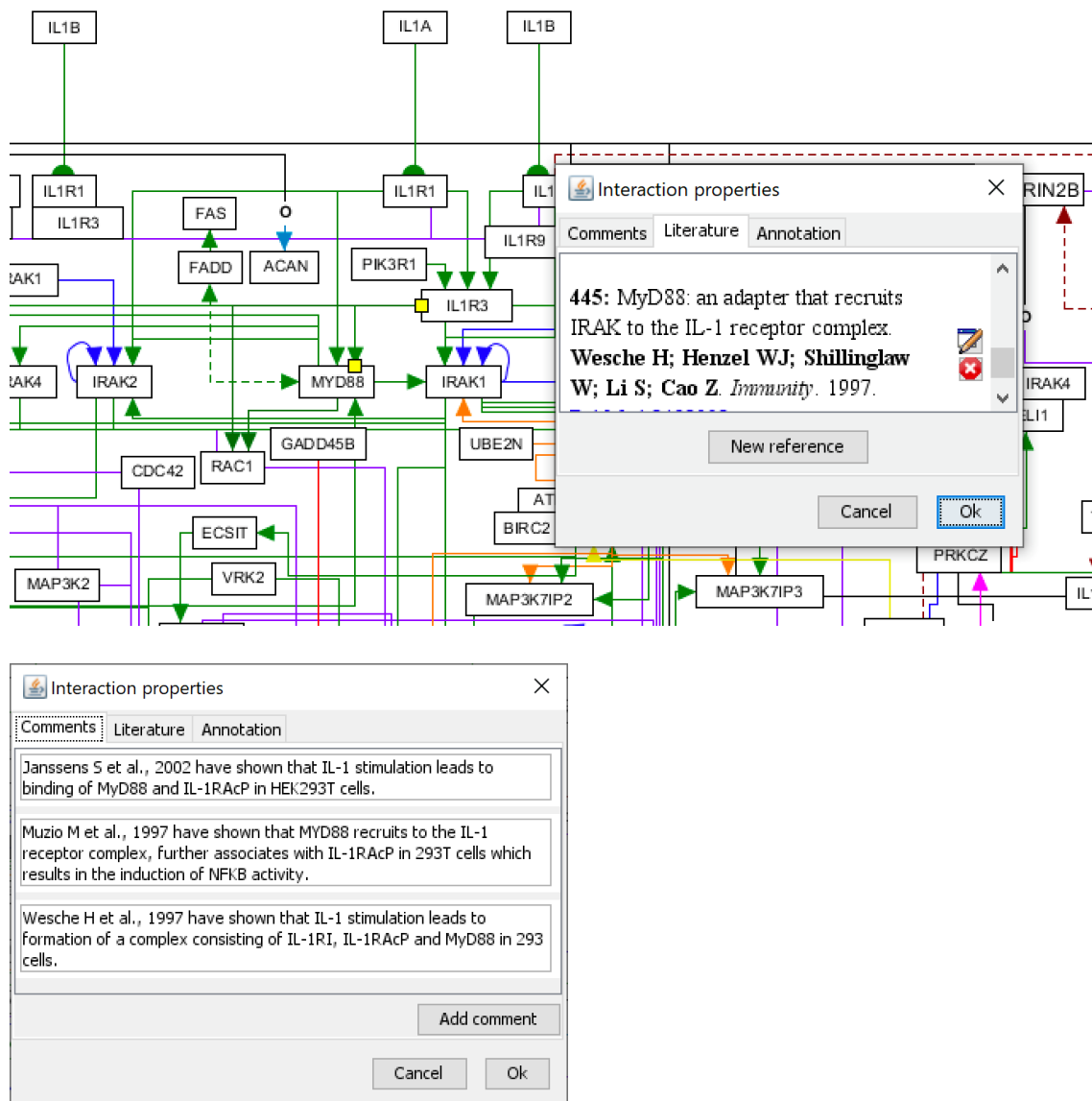


Abbildung 9: Ansicht der hinterlegten Informationen über die jeweiligen Reaktionen.

Mittels eines Doppelklicks mit der linken Maustaste auf den Pfeil der Reaktion lassen sich die *Interaction properties* darstellen. Hier finden sich die Informationen, die durch Literaturrecherchen gewonnen wurden. Die Kommentare geben standardisiert Aufschluss über den Erstautor, das Publikationsjahr, Inhalt und genutztes Modellsystem bzw. Gewebe. Unter dem Reiter Literatur finden sich die dazugehörigen Literaturverweise mit einem aktiven Link zur Originalpublikation in der Datenbank *PubMed*. Der ausgewählte Reaktionspfeil wird am Start- und Endpunkt mit gelben Quadraten markiert.

Durch den Anstieg der Informationen aus Molekülen und Reaktionen, die in dieser IL-1-Signaltransduktionskarte abgebildet werden, musste die ursprüngliche räumliche Aufteilung zunehmend verlassen werden. Grundsätzlich blieb aber die vertikale Ordnung bestmöglich erhalten, d.h. es werden von oben nach unten, verschiedene räumliche Strukturen der Zelle durchlaufen. Der obere Rand der Karte stellt die Zellmembran mit ihren extrazellulären Liganden und membranständigen Rezeptoren dar. Darauf folgend befinden sich intrazelluläre membranständige Moleküle oder Molekülkomplexe. Etwas weiter unten sind membrannahe, zytosolische oder in Zellorganellen befindliche Moleküle abgebildet. Am unteren Rand der Karte finden sich vor allem Moleküle, die im Zellkern vorhanden sind, wie z.B. IL-1-regulierte Transkriptionsfaktoren, Zielgene und daraus resultierende IL-1-induzierte mRNAs. Die so visualisierten Moleküle sind in der Regel durch Reaktionspfeile mit dem Netzwerk verbunden (vgl. Abbildung 10).

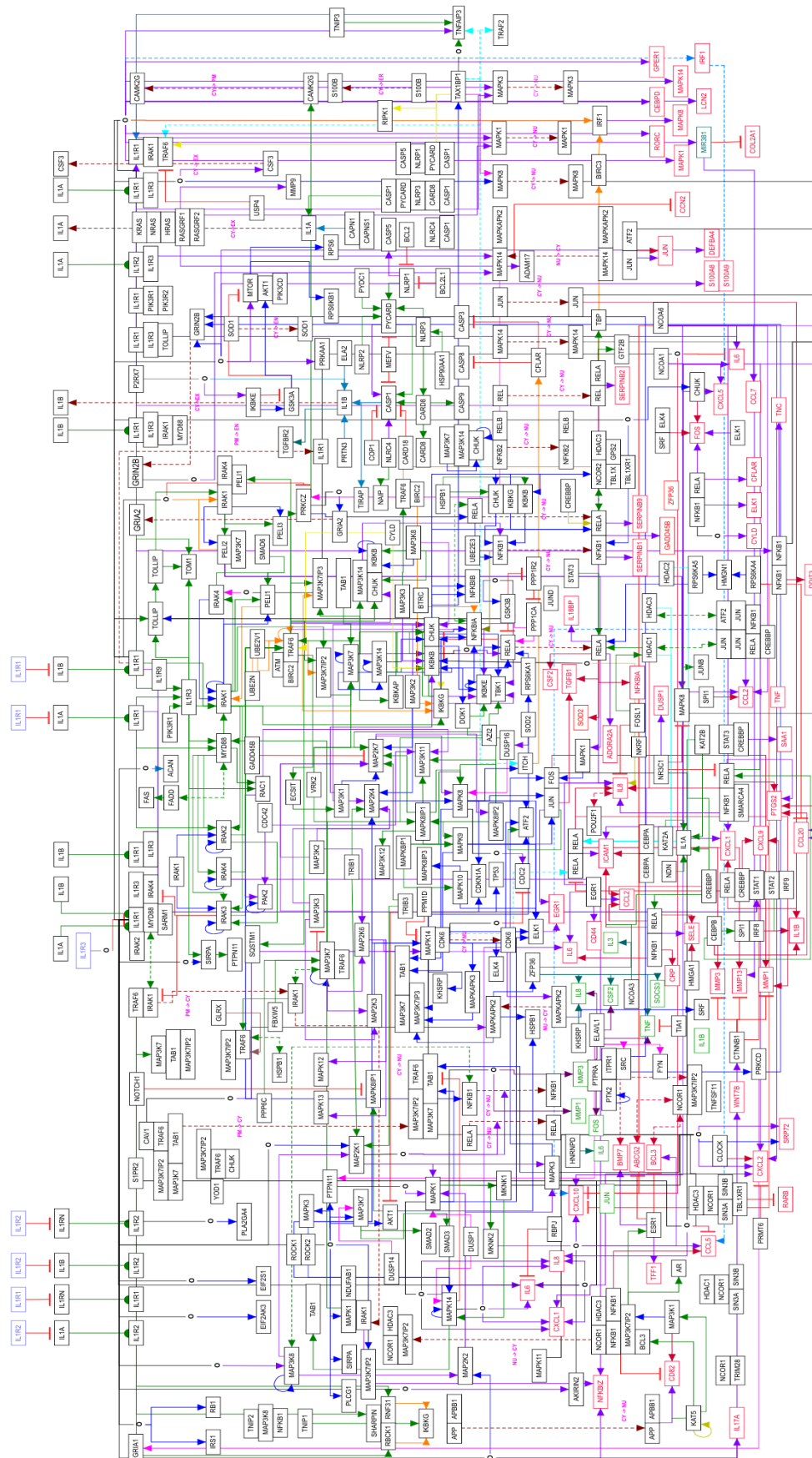


Abbildung 10: Überblick über die komplette neueste Version der IL-1-Signaltransduktionskarte und deren räumliche Aufteilung.

Von oben nach unten werden in der Karte verschiedenen Zellkompartimente durchlaufen. Oberster Rand: Liganden und Rezeptoren der Zellmembran. Oben: Membranständige Moleküle und Komplexe. Mitte: Zytosolische und in Zellorganellen befindliche Moleküle. Unten: Moleküle des Zellkerns. Legende siehe Abb. 7.

Mit dem Programm *PathVisio* wird nicht nur die IL-1-Signaltransduktionskarte interaktiv verbildlicht, sondern es lassen sich rechts neben dem Kartenfeld auch zahlreiche Zusatzinformationen anzeigen. So können unter dem Reiter *Backpage* weitere Informationen über das entsprechende Molekül gefunden werden. Hierzu zählt der abgekürzte Gencode, ein numerisch codierter *Gene Identifier* (NCBI-ID) und die Angabe, aus welcher Datenbank der *Identifier* stammt. In der gesamten IL-1-Signaltransduktionskarte wurde die Gendatenbank *Entrez Gene* und deren zugehörige *Identifier* zur Charakterisierung der Moleküle verwendet. Zusätzlich finden sich noch der Klarnamen des Gens, sowie dessen Lokalisierung im Chromosomensatz des Menschen (vgl. Abbildung 11).

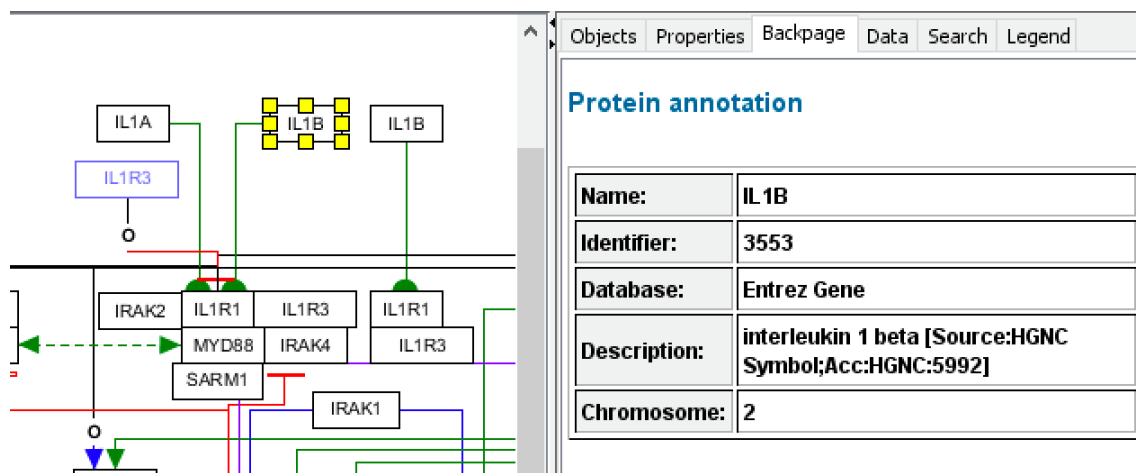


Abbildung 11: Darstellung des Reiters „Backpage“ mit gen-zentrierten Zusatzinformationen.

In diesem Reiter werden der abgekürzte Gencode (IL1B), die Identifikationsnummer der Gendatenbank *Entrez Gene* (3553), der Klarnamen des Gens (Interleukin-1 beta) und die Lokalisation des Gens im Chromosomensatz (Chromosom 2) dargestellt. *Entrez Gene* entspricht der Gen-zentrierten Datenbank des NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=gene), welche kurierte und automatisiert zusammengefasste Daten des NCBI's *Reference Sequence Project* (RefSeq) zu einzelnen Genen zusammenfasst.

3.1.2.1.1 Neu erstellte Molekülkommentare der erweiterten IL-1 Karte

Nachfolgend erfolgt eine detaillierte und umfassende alphabetische sortierte Beschreibung der betreffenden Moleküle und deren Molekülkommentare.

Die IL-1 induzierte Aktivierung von „ADAM Metallopeptidase Domain 17“ (ADAM17) in murinen „Mouse Embryo Fibroblast-Zellen“ (MEF-Zellen) ist über indirekte Mechanismen durch die „Mitogen-Activated Protein Kinase 14“ (MAPK14) reguliert. Dafür wird keine Phosphorylierung von Threonin 735 (T735) oder einer zytoplasmatischen Domäne von ADAM 17 benötigt. Gewonnen wurden diese Ergebnisse mittels Immunoblots (Hall and Blobel, 2012).

IL-1 induziert die Expression von „Adam Metallopeptidase With Thrombospondin Type 1 Motif 4“ (ADAMTS4) in humanen Chondrozyten über MAPK14, „Mitogen Activated Protein Kinase 1“ (MAPK1) und „Mitogen Activated Protein Kinase 8“ (MAPK8) Signalwege. „Jun Proto-Oncogene, AP-1 Transcription Factor Subunit“ (JUN), „Activating Transcription Factor 2“ (ATF2) und „Nuclear Factor Kappa B Subunit 1“ (NFKB1) sind die Transkriptionsfaktoren, welche an dieser Expression beteiligt sind. Diese Zusammenhänge wurden u.a. durch pharmakologische Inhibition entschlüsselt (Sylvester et al., 2012).

Die „AKT Serine/Threonine Kinase 1“ (AKT1) und die „Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Delta“ (PIK3CD) werden für die IL-1 β induzierte „Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase“ (MTOR) Aktivierung benötigt. Die Daten wurden mithilfe von T-Helferzellen 17 (Th17), pharmakologischer Inhibition und Immunoblots gewonnen (Gulen et al., 2012).

Die „ATM Serine/Threonine Kinase“ (ATM) fördert die durch „TNF Receptor Associated Factor 6“ (TRAF6) und „Ubiquitin Conjugating Enzyme E2 N“ (UBE2N) vermittelte Bildung von „Lysin 63“ (K63) verbundenen Polyubiquitinketten mittels Interaktion zwischen ATM und TRAF6. Die Erhebung der Daten wurde an der „humanen Leberkarzinom G2“ Zelllinie HepG2 mittels Immunoblot durchgeführt (Hinz et al., 2010).

Das Protein „Baculoviral IAP Repeat Containing 2“ (BIRC2) verbindet sich mit TRAF6, abhängig von einer intakten „Really Interesting New Gene“ (RING) Domäne des Proteins TRAF6. Das Zellmaterial dieser Veröffentlichung waren „Human Embryonic Kidney 293“-Zellen (HEK293), die mittels Immunoblot aufgearbeitet wurden (Hinz et al., 2010).

Die Expression von „Calcium/Calmodulin Dependent Protein Kinase II Gamma“ (CAMK2G) an der Zellmembran wird durch phosphorylierte „Protein Kinase C Delta“ (PRKCD) reduziert. Die Resultate wurden durch Immunoblots an hippocampalen Neuronen von Ratten erzielt (Taoro-Gonzalez et al., 2018).

Die Expression des Proteins „Cellular Communication Network Factor 2“ (CCN2) wird durch IL1- α vermittelte Interaktion mit „Mitogen-Activated Protein Kinase 14“ (MAPK14) unterbunden. Die Daten wurden mithilfe von Immunoblots und pharmakologischer Inhibition an humanen kardialen Fibroblasten erhoben (Maqbool et al., 2013).

Das Enzym „Cyclin Dependent Kinase 6“ (CDK6) erhöht die „RNA Polymerase II“ Aktivität. Mittels Immunoblots, RNAi-vermitteltem *knockdown* und pharmakologischer Inhibition konnte dieses Ergebnis an humanen Epithelzellen eines Zervixkarzinoms (HeLa) gefunden werden (Handschick et al., 2014).

IL-1 induziert die Expression von „CCAAT Enhancer Binding Protein Delta“ (CEBPD). Diese wird durch pharmakologische Inhibition von „Mitogen Activated Protein 8“ (MAPK8), „Casein Kinase 2“ (CK2) und „Nuclear Factor Kappa B“ (NFkB) abgeschwächt. Ein *knockdown* von p50 und p65 Untereinheiten von NFkB schwächt die Expression von CEBPD ebenfalls ab. Durch pharmakologische Inhibition und Expression an humanen Leberkarzinom-Zellen (Hep3B) konnten diese Daten erhoben werden (Ali et al., 2010).

Das Protein „Component Of Inhibitor Of Nuclear Factor Kappa B Kinase Complex“ (CHUK, auch IKBKA oder IKK1 genannt) benötigt weiter stromaufwärts in der IL-1-Signaltransduktionskarte das Enzym „Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase Kinase 7“ (MAP3K7) um aktiviert werden zu können. Durch an „Mouse Embryo Fibroblasts“-Zellen (MEF) durchgeführte pharmakologische Inhibitionen konnten diese Informationen gewonnen werden (Clark et al., 2011). Für die IL-1 abhängige Phosphorylierung von CHUK werden an Methionin 1 (Met1) verbundene Ubiquitinketten und deren Interaktion mit der Untereinheit „Inhibitor Of Nuclear Factor Kappa B Kinase Regulatory Subunit Gamma“ (NEMO) benötigt. Die Daten wurden mithilfe von Immunoblots an MEF-Zellen erhoben (Zhang et al., 2014). IL-1 ist in der Lage die Phosphorylierung von CHUK und „Nuclear Factor Kappa B 1“ (NFkB1) zu verursachen. Bedingt durch die Phosphorylierung werden an CHUK Polyubiquitinketten angehängt. Um diese

Ergebnisse zu gewinnen wurden an „Osteoblast-Like MC3T3-E1“-Zellen der Maus Immunoblots durchgeführt (Kato et al., 2012).

Der im Zellkern befindliche Cofaktor „Clock Circadian Regulator“ (CLOCK) wird für die volle Aktivierung des „C-X-C Motif Chemokine Ligand 2“ (CXCL2) Gens in der IL-1-Signalkaskade benötigt. Diese Daten wurden mittels RNAi-vermitteltem *knockdown* an MEF-Zellen erhoben (Meier-Soelch et al., 2018).

Versuche an Endothelzellen der Maus zeigten mithilfe von Expression und Inhibition der Proteine, dass die autokrine Sekretion des Proteins „Colony Stimulating Factor 3“ (CSF3) durch IL-1 α verursacht wird (Altmeier et al., 2016).

IL-1 α und IL-1 β induzieren die Hochregulation der proinflammatorischen Gene des „C-X-C Motif Chemokine Ligand 1“ (CXCL1) und des „C-X-C Motif Chemokine Ligand 2“ (CXCL2). Durch Immunoblots an humanen Mesangium-Zellen konnten diese Informationen gewonnen werden (Luo et al., 2015).

Die Bildung des Proteins „Defensin Beta 4A“ (DEFB4A) wird durch IL-1 α verursacht. Diese Daten konnten mithilfe von Immunoblots an humanen Keratozyten der Mundschleimhaut „TR146“ erhoben werden (Sorenson et al., 2012).

Das Protein „Fos Proto-Oncogene, AP-1 Transcription Factor Subunit“ (FOS) wird durch cAMP oder S1P induziert und führt zur Inhibition der IL-1 verursachten Bildung des „C-C Motif Chemokine Ligand 5“ (CCL5). Dadurch ebenfalls inhibiert wird die positive Feedbackschleife des Proteins „Interferon Beta 1“ (IFNB1). Dies konnte mit Versuchen an humanen Astrozyten durch Immunoblots belegt werden (Yester et al., 2015).

Durch Immunoblots wurde gezeigt, dass IL-1 β die Bildung des Proteins „G Protein-Coupled Estrogen Receptor 1“ (GPER1) in humanen parodontalen Ligamentzellen (PDL) verursacht (Luo et al., 2012).

Die reduzierte Phosphorylierung von „Glutamate Ionotropic Receptor AMPA Type Subunit 2“ (GRIA2) an der Aminosäure Serin 880 (Ser880) und der vermehrte Einbau von GRIA2 in die Zellmembran sind verbunden mit der durch IL-1 β verursachten verminderten Aktivität von „Protein Kinase C Zeta“ (PRKCZ). Dies konnte an hippocampalen Neuronen von Ratten mittels Immunoblots und pharmakologischer Inhibition gezeigt werden (Taoro-Gonzalez et al., 2018).

Die „Glycogen Synthase Kinase 3 Beta“ (GSK3B) wird IL-1 abhängig phosphoryliert. Die durch das Protein „Inhibitor Of Nuclear Factor Kappa B Kinase Subunit Epsilon“ (IKBKE) vermittelte Inaktivierung von „Glycogen Synthase Kinase 3 Alpha“ (GSK3A) wird für die IL-1 β abhängige AKT1-MTOR Aktivierung benötigt. Beide Ergebnisse sind durch Immunoblots von Th17-Zellen erhoben worden (Gulen et al., 2012).

Das Enzym „Histone Deacetylase 3“ (HDAC3) wird sowohl für die durch IL-1 verursachte Bildung von IL-8 als auch für die durch IL-1 verursachte Bildung von CXCL2 benötigt. Diese Expressions- und Inhibitionsdaten wurden an HEK293-Zellen gesammelt (Ziesche et al., 2013).

Um das Protein „Inhibitor Of Nuclear Factor Kappa B Kinase Subunit Beta“ (IKBKB) zu aktivieren wird stromaufwärts der IL-1-Signalkaskade „Mitogen Activated Protein Kinase Kinase Kinase 7“ (MAP3K7) benötigt. Dies konnte durch pharmakologische Inhibition an MEF-Zellen der Maus gezeigt werden (Clark et al., 2011). Zur Phosphorylierung von IKBKB werden darüber hinaus an Methionin 1 verbundene Ubiquitinketten und deren Interaktion mit der Proteinkomponente NEMO benötigt, was mit Immunoblots von MEF-Zellen festgestellt wurde (Zhang et al., 2014).

Der „Inhibitor Of Nuclear Factor Kappa B Kinase Subunit Epsilon“ (IKBKE) hingegen benötigt für seine Aktivierung den „TNF Receptor Associated Factor 6“ (TRAF6) und NEMO, allerdings nicht die MAP3K7 und den „TNF Receptor Associated Factor 3“ (TRAF3). Diese Daten wurden mit pharmakologischer Inhibition an MEF-Zellen der Maus erhoben (Clark et al., 2011).

Damit „Inhibitor Of Nuclear Factor Kappa B Kinase Subunit Gamma“ (IKBKG) NFKB1 und das im Zellkern befindliche „Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1“ Signalosom (PARP1) aktivieren kann, wird eine intakte Ubiquitin bindende Domäne benötigt. Diese Domäne bindet an Lysin 63 (K63) verlinkte Polyubiquitinketten, die von „ATM Serine/Threonine Kinase“ (ATM), TRAF6 und „Ubiquitin Conjugating Enzyme E2 13“ (UBE2N) induziert werden. Diese Informationen stammen aus Immunoblots von menschlichen 1.3E2-Zellen (Hinz et al., 2010). Eine weitere Funktion von IKBKG stellt das Binden von an Methionin 1 verbundenen Polyubiquitinketten (M1-pUb) in IL-1 stimulierten menschlichen HEK293-Zellen dar. Diese Erkenntnis konnte mithilfe von Immunoblots gesichert werden (Emmerich et al., 2013).

Durch Expressionsdaten und pharmakologischer Inhibition konnte an Why1 CD4 T-Zellen herausgefunden werden, dass IL-1 β die Bildung von IL-17 anregt (Smith et al., 2011).

IL-1 α hat bereits in seiner Vorläuferform intrinsische Aktivität, was dazu beitragen kann, dass ein aktiver IL-1 α Signalkomplex gebildet werden kann, wie mittels Expressionsversuchen in HEK293-Zellen gezeigt werden konnte (Gunther et al., 2017). Die durch Interferon Behandlung stimulierten Gene werden nach Aktivierung durch IL-1 α und IL-1 β über den Janus Kinase (JAK) und „Signal Transducer And Activator Of Transcription 1“ (STAT1) Signalweg vermehrt abgelesen. Ebenfalls findet eine durch IL-1 α vermittelte antivirale Genexpression und verminderte virale Vermehrung über die Regulierung des Transkriptionsfaktors „Interferon Regulatory Factor 1“ (IRF1) statt. Durch Analyse von Expressionsdaten und Immunoblots konnten diese Informationen an menschlichen Fibroblasten und Keratinozyten extrahiert werden (Orzalli et al., 2018). In neutrophilen Granulozyten der Maus konnte mithilfe von Immunoblots gezeigt werden, dass IL-1 β im Rahmen einer positiven Feedbackschleife, die Bildung des Vorläuferproteins proIL-1 β erhöht (Crocker et al., 2011). Die durch IL-1 induzierte „Interleukin-1 Receptor 1“ (IL-1R1) Endozytose ist von funktionierenden *lipid rafts* in der Zellmembran abhängig. Dies gilt allerdings nur für die verzögert aktivierten Signalwege (>30min), weil der IL-1R1 zwei verschiedene Prozesswege zur Signalweiterleitung über die Zellmembran besitzt. Der Rezeptor kann Informationen über die Zellmembran zum einen mittels Signaltransduktion oder zum anderen über Endozytose weiterleiten. Die Ergebnisse konnten an menschlichen HEK293-Zellen durch Immunoblotverfahren gesammelt werden (Windheim, 2016).

Die α C-Helix der „Toll/IL-1-Rezeptor“ (TIR) Domäne des IL-1R1 ist entscheidend für die IL-1 Signaltransduktion. Dies konnte in einem Versuchsaufbau durch Mutagenese und funktionellen Assays an menschlichen Jurkat T-Zellen gezeigt werden (Radons et al., 2015).

Das „Interleukin-1 Receptor Accessory Protein Like 1“ (IL-1R9, ehem. IL-1RAPL1) vermittelt die Signalweiterleitung von IL-1 β zum „c-Jun Terminal Kinase“ (JNK) Signalweg wie mittels Immunoblots von kortikalen Neuronen aus Mäusen gezeigt werden konnte (Pavlovsky et al., 2010).

Interleukin-1 (α und β) ist in der Lage, in menschlichen Mesangiumzellen die Bildung von Interleukin-8 zu erhöhen, was mithilfe von Immunoblots dargestellt wurde (Luo et al., 2015).

Die „Interleukin-1 Receptor Associated Kinase 1“ (IRAK1) ist entscheidend für die „NFKB Inhibitor Zeta“ (NFKBIZ) vermittelte posttranskriptionale Regulation in der Zelle. Die Kinase Aktivität selbst von IRAK1 wird dazu allerdings nicht benötigt. Diese Daten wurden durch Expression und pharmakologischer Inhibition an menschlichen HEK293-Zellen erhoben (Ohba et al., 2012). Durch Versuche mittels genetischer Knockout-Modelle an menschlichen HEK293-Zellen konnte gezeigt werden, dass „Interleukin-1 Receptor Associated Kinase 2“ (IRAK2) eine katalytisch inaktive Pseudokinase darstellt, die nicht in der Lage ist, Isoformen des Proteins Pellino zu phosphorylieren und damit zu aktivieren (Strickson et al., 2017). Für die Reifung von Th17-Zellen ist IRAK2 ein Schlüsselenzym, wie Ergebnisse aus Versuchen zur Expression und pharmakologischer Inhibition an T-Zellen der Maus herausstellten (Smith et al., 2011). In menschlichen HEK293-Zellen ist die „Interleukin-1 Receptor Associated Kinase 4“ (IRAK4) dauerhaft aktiv und ihre Aktivität wird nicht durch das „Myeloid Differentiation Primary Response 88“ (MYD88) Signalnetzwerk verstärkt. Diese Informationen wurden durch pharmakologische Inhibition gewonnen (Vollmer et al., 2017). IRAK4 kann an vier verschiedenen Orten phosphoryliert werden: An Threonin 342, an Threonin 345, an Serin 346 und an Threonin 352. Dies konnte durch Immunoblots an menschlichem Gewebe gezeigt werden, allerdings in einem *in vitro*-Modell (Cushing et al., 2014). Die Autophosphorylierung von IRAK4, welche für die Kinase Aktivität von IRAK4 benötigt wird, ist abhängig vom Vorhandensein der *death domain*. Diese Daten wurden an menschlichen Fibroblasten der Haut mittels Immunoblots dargestellt (Cushing et al., 2014). Tyrosin 262 stabilisiert in der aktiven Form von IRAK4 die regulatorische Konformation. Diesen Schluss lässt die Kristallographie in einem *in vitro*-Modell an menschlichem Gewebe zu (Ferrao et al., 2014). Ebenfalls in einem *in vitro*-Modell an menschlichem Gewebe konnte durch einen *kinase activity assay* gezeigt werden, dass IRAK4 sowohl ATP als auch mehr als ein Mg^{2+} -Ion benötigt, um seine optimale katalytische Aktivität zu entfalten (Hekmat-Nejad et al., 2010). Die Kinase Aktivität von IRAK4 ist entscheidend für die Aktivierung von NFKB und die von NFKBIZ vermittelte post-transkriptionelle Regulation. Dies konnte durch Expression und pharmakologische Inhibition an menschlichen HEK293-Zellen gezeigt werden (Ohba et al., 2012). Die

Kinase Aktivität von IRAK4 kontrolliert die Dynamik und die Stabilität des Myddosom-Komplexes. Während sich unphosphoryliertes IRAK4 vorzugsweise mit MYD88 verbindet, verbindet sich phosphoryliertes IRAK4 vorzugsweise mit IRAK1. Die Kinase Aktivität ist allerdings nicht entscheidend für die IRAK4-abhängige Zytokinaktivität und für die IL-1 Signaltransduktion. Per Immunoblot konnten diese Erkenntnisse in menschlichen Fibroblasten der Haut erzeugt werden (De et al., 2018).

Die Ubiquitinierung von „Interferon Regulatory Factor 1“ (IRF1) mit Lysin 63 (K63) verbundenem Ubiquitin führt zur Aktivierung und die Ubiquitinierung mit Lysin 48 (K48) verbundenem Ubiquitin führt zum Abbau von IRF1. Dies konnte an menschlichen HEK293-Zellen durch Expression gezeigt werden (Harikumar et al., 2014).

Das Zytokin IL-1 β aktiviert in Beta-Zellen des Pankreas (MIN6) die „Mitogen-Activated Protein Kinase 8“ (MAPK8) und das „Jun Proto-Oncogene, AP-1 Transcription Factor Subunit“ (JUN), was mithilfe von Immunoblots aufgedeckt werden konnte (Shao et al., 2010).

In Chondrozyten (ATDC5) der Maus wird die Bildung des Proteins „Lipocalin 2“ (LCN2) von IL-1 α induziert. Die Informationen konnten durch Expression gewonnen werden (Conde et al., 2017).

Die durch IL-1 β verursachte Phosphorylierung von „Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 7“ (MAP3K7) findet ausschließlich an der Position Threonin 187 (Thr187) statt. Die Daten wurden durch ein genetisches Knockout-Modell an menschlichen HEK293-Zellen erhoben (Zhang et al., 2017).

Die Bildung von „Mitogen-Activated Protein Kinase 1“ (MAPK1) und „Mitogen-Activated Protein Kinase 14“ (MAPK14) wird durch IL-1 β induziert. Die Expression von MAPK8 wird durch IL-1 β verursacht. Dies konnte mittels Expression und Immunoblots an menschlichen PDL-Zellen beobachtet werden (Luo et al., 2012). Die MAPK1, MAPK3 und MAPK14 Signaltransduktionswege werden durch IL-1 β aktiviert. Durch Immunoblot und Inhibition an uterinen Epithelzellen (LE) vom Schwein wurden diese Ergebnisse ermittelt (Jeong et al., 2016). Über den Rezeptor IL-1R1 sorgt IL-1 α/β für die Phosphorylierung von MAPK1 und für die Bildung von IL-6. Anhand der Daten aus Immunoblots und Inhibition von Mausneuronen konnte dies postuliert werden (Nguyen et al., 2011). IL-1 β verursacht die Phosphorylierung und die Expression auf der Zellmembran von „Glutamate Ionotropic Receptor NMDA Type Subunit 2B“ (GRIN2B),

was wiederum für die Aktivierung von MAPK14 in Hippocampus-Zellen von Ratten sorgt. Dies konnte durch Immunoblots und Inhibition belegt werden (Taoro-Gonzalez et al., 2018). Die Phosphorylierung von MAPK8 wird durch IL-1 induziert, was auch die Synthese von IL-6 im Signaltransduktionsweg zwischen „Protein Kinase AMP-Activated Catalytic Subunit Alpha 1“ (PRKAA1) und dem CHUK/NFkB1 Komplex herunterreguliert. Diese Daten konnten an „Osteoblast-like MC3T3-E1“-Zellen der Maus durch Immunoblots beobachtet werden (Kondo et al., 2013). Es wurde ebenfalls mittels Immunoblot nachgewiesen, dass die Proteine MAPK8 und Jun durch IL-1 β in Beta-Zellen des Pankreas von Mäusen aktiviert werden (Shao et al., 2010).

IL-1 β ist in der Lage, die Bildung des Proteins „MicroRNA 381“ (MIR381) zu induzieren. MIR381 wiederum erhöht die Bildungsrate von „Matrix Metalloproteinase 13“ (MMP13) und reduziert die Bildungsrate von „Collagen Type II Alpha 1 Chain“ (COL2A1), was mittels Expression, Inhibition und PCR an „ATDC5“-Zellen und Gelenkknorpelzellen von Mäusen und Menschen herausgefunden wurde (Hou et al., 2015).

Die Bildung des Enzyms MMP13 wird durch IL-1 α in Chondrozyten der Maus verursacht (Conde et al., 2017). Durch die Stimulation von IL-1 α/β wird die „Matrix Metalloproteinase 9“ (MMP9) aktiviert. Diese Informationen stammen aus menschlichen glatten Muskelzellen der Gefäße (VSMC) und wurden durch Immunoblots gewonnen (Beltrami-Moreira et al., 2016).

IL-1 β verursacht die Aktivierung des Proteins „Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase“ (MTOR). Diese Daten wurden in Th17-Zellen der Maus mithilfe von Immunoblots und Inhibitionsexperimenten erhoben (Gulen et al., 2012).

Der Transkriptionsfaktor „Nuclear Receptor Coactivator 1“ (NCOA1) spielt eine positive Rolle in der Regulation von „C-X-C Motif Chemokine Ligand 1“ (CXCL1), „C-X-C Motif Chemokine Ligand 2“ (CXCL2), „C-X-C Motif Chemokine Ligand 5“ (CXCL5), „C-X-C Motif Chemokine Ligand 10“ (CXCL10), „C-C Motif Chemokine Ligand 2“ (CCL2), „C-C Motif Chemokine Ligand 20“ (CCL20), „Intercellular Adhesion Molecule 1“ (ICAM1) und IL-6. Der Transkriptionsfaktor „Nuclear Receptor Coactivator 6“ spielt eine negative Rolle in der Regulation von CXCL1, CXCL2, CXCL5, CCL2, „C-C Motif Chemokine Ligand 7“ (CCL7), CCL20 und IL-6. Diese Erkenntnisse beruhen auf RNAi-

vermitteltem *knockdown* Experimenten an MEF-Zellen von Mäusen (Meier-Soelch et al., 2018).

Die IL-1 vermittelte Bindung von „Nuclear Factor Kappa B“ (NFKB) und der DNA benötigt die NFKB-Untereinheiten p50 und p56. Die Bindung und Aktivierung von NFKB kann durch pharmakologische Inhibition von „Protein Kinase 2 Alpha 1“ (CSNK2A1) und MAPK8 abgeschwächt werden. Diese Informationen stammen aus menschlichen Leberzellen (Hep3B) und wurden durch Inhibition erhoben (Ali et al., 2010).

Die Proteine Pellino1 und Pellino2 sind in der Lage, Lysin 63 (Lys63) verknüpfte Ubiquitinketten zu generieren, welche für die Aktivierung von MAP3K7 benötigt werden. Die Daten wurden mittels genetischen Knockout-Modellen an menschlichen HEK293-Zellen gewonnen (Strickson et al., 2017). Pellino2 wird zur Lys63 und Lys48 (hierfür allerdings nicht essenziell) verbundenen Polyubiquitinierung von IRAK1 benötigt. Darüber hinaus aktiviert Pellino2 MAP3K7 abhängig die Proteine NFKB1, MAPK1 und MAPK8. Mittels Immunoblot konnten diese Daten an der menschlichen HEK293-Zelllinie gewonnen werden (Kim et al., 2012).

Die „Protein Kinase AMP-Activated Catalytic Subunit Alpha 1“ (PRKAA1) wird mittelbar durch IL-1 aktiviert. In „Osteoblast-like MC3T3-E1“-Zellen von Mäusen reguliert PRKAA1 negativ die IL-6 Bildung über die NFKB1 und CHUK Signalwege, was mithilfe von Immunoblots gezeigt werden konnte (Kato et al., 2012). Die PRKAA1 vermittelte Unterdrückung der IL-1 Signaltransduktion reduziert die Phosphorylierung von IRAK4 und die Expression von CXCL10. Aktiviertes PRKAA1 unterbindet die Phosphorylierung und Aktivierung der „Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 4“ (MAPK4)/MAPK8, sowie der „Inhibitor Of Nuclear Factor Kappa B Kinase“ (IKBK)/„Inhibitor Of Nuclear Factor Kappa B“/„Nuclear Factor Kappa B“ Signalwege. Beide Informationen stammen von Immunoblots an „3T3-L1delta1CAR“-Adipozyten von Mäusen (Mancini et al., 2017).

Das Enzym „Protein Arginine Methyltransferase 6“ (PRMT6) unterdrückt die CXCL2 Expression in MEF-Zellen der Maus. Diese Erkenntnisse beruhen auf RNAi-vermitteltem *knockdown* Experimenten an MEF-Zellen von Mäusen (Meier-Soelch et al., 2018).

In menschlichen Fibroblasten der Gingiva reguliert IL-1 β über den „Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type A“ (PTPRA) die MMP3 Bildung, was anhand von Immunoblots gezeigt werden konnte (Wang et al., 2010b).

Das Protein „RELA Proto-Oncogene, NF κ B Subunit“ (RELA) stellt einen Hauptregulator der epigenetischen Modifikation H3K27ac dar. Reguliert wird RELA durch den MAP3K7/„Inhibitor of NF κ B Subunit Beta“ (IKBKB) Signalweg und reguliert selbst indirekt die Acetylierung von Verstärkermolekülen die Transkription von IL-8 und weiteren CXC Chemokin Genen. Dieses konnte via Chromatinimmunopräzipitation an menschlichen Epithelzellen (HeLa) ermittelt werden (Jurida et al., 2015). Weitere Zielgene von RELA sind MMP1, MMP3 und MMP13, was durch Expression und pharmakologische Inhibition an menschlichen Chondrozyten festgestellt wurde (Ma et al., 2012).

Anhand von Immunoblots an menschlichen HEK293-Zellen wurde gezeigt, dass „Ring Finger Protein 31“ (RNF31), als Teil des „Linear Ubiquitination Chain Assembly Complex“ (LUBAC), mit Lys63 verbundenen Ubiquitinketten interagiert. Auf diese Weise konnte ebenso gezeigt werden, dass RNF31 die einzige E3-Ubiquitinligase in MEF-Zellen der Maus ist, die die Bildung linearer, an Methionin 1 (Met1) verbundener Ubiquitinketten katalysiert (Emmerich et al., 2013).

Die Enzyme „Rho Associated Coiled-Coil Containing Protein Kinase 1/2“ (ROCK1 und ROCK2) sind unverzichtbar für die Phosphorylierung von MAPK14 und MAP2K4. Die Daten wurden an menschlichen Epithelzellen erhoben (Caco-2 und IEC) (Rafferty et al., 2012; Banerjee and McGee, 2016).

Der Transkriptionsfaktor „RAR Related Orphan Receptor C“ (RORC) wird durch IL-1 β hochreguliert, was mittels Expression und Inhibition an Why1 CD4 T-Zellen von Mäusen beobachtet wurde (Smith et al., 2011).

Das „Ribosomal Protein S6“ wird durch den von IL-1 β induzierten MAPK1/MAPK2/MTOR Signalweg aktiviert. Die „Ribosomal Protein S6 Kinase A1“ (RPS6KA1) wird durch den MAPK14 Signalweg aktiviert. Die „Ribosomal Protein S6 Kinase B1“ (RPS6KB2) wird durch den MAPK1/MAPK3/MTOR Signalweg aktiviert. Diese Ergebnisse wurden durch Immunoblots und Inhibition an uterinen Epithelzellen der Maus erfasst (Jeong et al., 2016). Die „Ribosomal Protein S6 Kinase A4“ (RPS6KA4) stellt einen negativen Regulator für CXCL10 und CCL20 dar. Diese Erkenntnisse beruhen auf RNAi-vermitteltem *knockdown* Experimenten an MEF-Zellen von Mäusen (Meier-Soelch et al., 2018).

IL-1 α / β induziert die Expression von Calprotectin (S100A8/S100A9 Heterodimer) in menschlichen oralen Keratozyten (TR146), was mithilfe von Immunoblots gezeigt werden konnte (Sorenson et al., 2012).

Der durch S1P aktivierte „Sphingosin-1-Phosphat Rezeptor 2“ (S1PR2) verhindert die IL-1 induzierte Expression von CCL5 anhand Ca²⁺ abhängiger Mechanismen. Diese Information stammt aus Expressionsstudien und Inhibitionsexperimenten an menschlichen Astrozyten (Yester et al., 2015).

IL-1 β verursacht die Veränderung der „SMAD Family Member 2“ (SMAD2) und der „SMAD Family Member 3“ (SMAD3) Interaktion über den MAP3K7 Weg, was mittels Immunoblot und Inhibition an menschlichen mesenchymalen Stammzellen herausgefunden wurde (van den Akker et al., 2017).

In menschlichen Jurkat-Zellen wurde gezeigt, dass IL-1 β die Hochregulation der Expression und der Phosphorylierung von „Signal Recognition Particle 72“ (SRP72) über den MAPK1/3/11/14 Signalweg anstößt. Dies wurde mittels Immunoblots belegt (Arana-Argaez et al., 2010).

Das Protein „Tax1 Binding Protein 1“ (TAX1BP1) wird von CHUK phosphoryliert und ist unverzichtbar für die Synthese des Ubiquitin verarbeitenden Proteins „TNF Alpha Induced Protein 3“ (TNFAIP3). Diese Information wurde durch Immunoblots an Fibroblasten von Mäusen (MEF) gewonnen (Shembade et al., 2011).

Die Aktivierung von „TANK Binding Kinase 1“ (TBK1) benötigt TRAF6 und NEMO, allerdings kein TRAF3 oder MAP3K7, was mithilfe von Inhibition an MEF-Zellen verifiziert wurde (Clark et al., 2011).

Der Abbau von „Transforming Growth Factor Beta Receptor 2“ (TGFB β R2) wird durch IL-1 β in menschlichen Chondrozyten verstärkt (Bauge et al., 2012).

Die Expression von „Tenascin C“ (TNC) über den NF κ B Signalweg wird durch IL-1 α induziert. Das konnten Immunoblots und Inhibitionsversuche an menschlichen Fibroblasten des Herzens bestätigen (Maqbool et al., 2013).

Die Zytokine IL-1 α / β verursachen die Hochregulation von TNFAIP3, was wiederum dazu führt, dass IRAK1 abgebaut wird, was mithilfe von Expressions und Inhibitionsexperimenten an menschlichen Mesangium-Zellen herausgefunden wurde (Luo et al., 2015).

Das Protein „TNF Superfamily Member 11“ (TNFSF11) spielt eine entscheidende Rolle in der IL-1 α vermittelten Verarbeitung von Osteoklastengenen. Dieses konnte in einem *in vitro*-Modell aus Mausgewebe dargestellt werden (Jules et al., 2012).

Die E3 Ligase Aktivität von „TNF Receptor Associated Factor 6“ (TRAF6) fördert die MYD88 Signalwege oder die Ausschüttung von IL-10, notwendig ist diese Aktivität dafür allerdings nicht. Die E3 Ligase ist hingegen bei der späten Signaltransduktion und bei der Bildung von proinflammatorischen Zytokinen unverzichtbar. TRAF6 selbst, aber nicht seine E3 Ligase Aktivität wird benötigt, um Lys63 Ubiquitinketten zu verbinden, wodurch wiederum das Enzym MAP3K7 aktiviert wird. Das konnte an menschlichen HEK293-Zellreihen mittels genetischen Knockouts gezeigt werden. TRAF6 liegt in seiner latenten räumlichen Anordnung an S-Glutathion gebunden vor. Diese Daten wurden durch Immunoblots an menschlichen HEK293- und HeLa-Zellreihen erhoben (Strickson et al., 2017).

In menschlichen Knorpelzellen erhöht IL-1 β die Expression von „WNT Family Member 7B“ (WNT7B), was wiederum basierend auf Immunoblot Analysen die MMP Expression durch „Catenin Beta 1“ (CTNNB1) Aktivierung erniedrigt (Ma et al., 2012) (vgl. Abbildung 12).

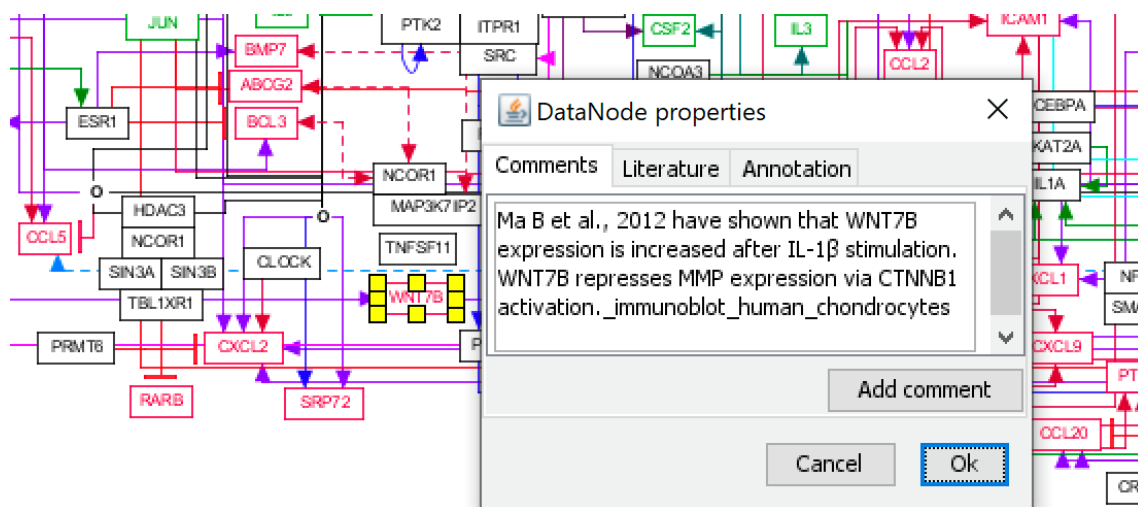


Abbildung 12: Beispielhafte Darstellung der Implementierung von Molekülkommentaren in die IL-1-Signaltransduktionskarte.

Durch einen Doppelklick mit der linken Maustaste auf das betreffende Molekül werden die Informationen der recherchierten Molekülkommentare angezeigt. Hinterlegt sind der Autor, das Publikationsjahr, die eigentlichen Informationen über das Molekül, der verwendete Versuchsaufbau, die Spezies des Gewebes und der verwendete Zelltyp. Unter dem Reiter *Literature* findet sich die Quellenangabe mit dem direkten Link zur Publikation in der Datenbank *PubMed*.

3.1.2.1.2 Neu erstellte Physikalische Interaktionen

IL-1 β induziert die Autophosphorylierung von MAP3K7 an Threonin an Position 187 (Thr187) unabhängig von der Bindung der Lys63 Ubiquitinketten an „TGF-Beta Activated Kinase 1 (MAP3K7) Binding Protein 2“ (TAB2) und „TGF-Beta Activated

Kinase 1 (MAP3K7) Binding Protein 3“ (TAB3). Die Aktivierung des MAP3K7/„TGF-Beta Activated Kinase 1 (MAP3K7) Binding Protein 1“ (TAB1) Komplexes benötigt die E3 Ligase Aktivität von TRAF6 und Ubiquitinketten. Diese Interaktionen konnten mithilfe von genetischen Knockout-Modellen an menschlichen HEK293-Zellreihen beobachtet werden (Zhang et al., 2017).

Die „Interleukin Receptor Associated Kinase 1“ (IRAK1) wird durch Interaktion mit IRAK4 aktiviert, Phosphorylierung, Ubiquitinierung oder IRAK4 Enzymaktivität werden dazu nicht benötigt. Die Autophosphorylierung von IRAK4 selbst an den Positionen Threonin 345 (Thr345) und Serin 346 (Ser346) ist eine Folge der Dimerisierung von IRAK4, welche durch ein Zusammenspiel mit MYD88 entsteht. Die Daten wurden durch Mutationsanalysen an menschlichen HEK293-Zellen gesammelt (Vollmer et al., 2017).

Der „TNF Receptor Associated Factor 6“ (TRAF6) hat wahrscheinlich eine entscheidende Rolle bei der Rekrutierung des LUBAC Komplexes zum Myddosom Komplex. Der LUBAC Komplex besteht aus den Proteinen „RANBP2-Type AND C3HC4-Type Zinc Finger Containing 1“ (RBCK1), „Ring Finger Protein 31“ (RNF31), „SHANK Associated RH Domain Interactor“ (SHARPIN) und TRAF6. Der Myddosom Komplex besteht aus „Interleukin-1 Receptor 1“ (IL-1R1), „Interleukin-1 Receptor Accessory Protein“ (IL-1R3), IRAK1, IRAK2, IRAK4, TRAF6, „Sterile Alpha And TIR Motif Containing 1“ (SARM1) und „MYD88 Innate Immune Signal Transduction Adaptor“ (MYD88). Das konnte durch genetische *knockout*-Modelle an menschlichen HEK293-Zellen gezeigt werden (Strickson et al., 2017).

Der „Interferon-Stimulated Gene Factor 3 Gamma“ (ISGF3) Komplex besteht aus den Proteinen „Interferon Regulatory Factor 9“ (IRF9), „Signal Transducer and Activator Of Transcription 1“ (STAT1) und „Signal Transducer and Activator Of Transcription 2“ (STAT2). Das Vorhandensein von „Interferon Regulatory Factor 1“ (IRF1) im Zellkern ist unabdingbar für die Expression von CCL5 und CXCL10, wird allerdings nicht benötigt für die Expression von „Interferon Regulatory Factor 7“ (IRF7) und „Interferon Regulatory Factor 3“ (IRF3). Diese Informationen wurden aus Expressionsdaten und *knockout*-Modellen von Astrozyten der Maus gewonnen (Harikumar et al., 2014).

Das Protein IL-1R3 nutzt drei Wege, um mit dem IL-1/IL-1R1 Komplex eine Verbindung einzugehen. Die „c2-d2“-Schleife verbindet Zytokin und Rezeptor. Das Isoleucin an Position 155 (Ile155) von IL-1R3 ist ein hydrophober Haken. Es findet eine hydrophobe

Wechselwirkung zwischen IL-1R1 und den *linker* Regionen zwischen Domäne 2 und 3 von IL-1R3 statt. Der antagonistische Effekt von „Interleukin-1 Receptor Antagonist“ (IL1RA) kann zumindest zum Teil mit der speziellen IL-1R3 Bindungsstelle und der Interaktion dieser Schleifen mit IL-1 β erklärt werden. Mittels Expressionsanalysen und Proteinfärbemethoden konnte dies an menschlichen HEK293-Zellen beobachtet werden (Gunther et al., 2017).

Die Bindung von „Baculoviral IAP Repeat Containing 2“ (BIRC2) und TRAF6 wird durch das Protein „Small Ubiquitin-Related Modifier“ (SUMO) beeinflusst, was mithilfe von Immunoblots an menschlichen HEK293-Zellen postuliert wurde (Hinz et al., 2010).

Der Komplex aus IL-1 β und IL-1R1 bindet das IL-1R3 (IL-1RAP) über eine zusammengesetzte Struktur aus IL-1 β und der D2, D3 Domäne von IL-1R1. Der gleiche Mechanismus wurde bei dem Komplex aus IL-1 β und IL-1R2 beobachtet, hier wird IL-1R3 (IL-1RAP) ebenfalls über eine zusammengesetzte Struktur aus IL-1 β und der D2, D3 Domäne von IL-1R1 gebunden. Diese Interaktion wurde mittels Kristallographie an einem *in vitro*-Modell aus menschlichem Gewebe aufgedeckt (Wang et al., 2010a).

Das phosphorylierte Protein „Tax1 Binding Protein 1“ (TAX1BP1) ist unabdingbar für die Rekrutierung von TAX1BP1, „Itchy E3 Ubiquitin Protein Ligase“ (ITCH) und „Tumor Necrosis Factor Alpha-Induced Protein 3“ (TNFAIP3) zu TRAF6 oder TRAF2. Dies wurde mithilfe von Immunoblots an Fibroblasten der Maus aufgedeckt (Shembade et al., 2011).

Der Komplex aus IL-1 β und IL-1R1 formt eine zusammengesetzte Bindungsstelle für IL-1R3 (IL-1RAP). Der ternäre Komplex aus IL-1 β , IL-1R1 und IL-1R3 (IL-1RAP) wiederum benötigt eine hydrophobe Bindungsstelle zwischen Ile135, Ile181, Leu181 in IL-1R3 (IL-1RAP) und Val160, Ile165 in IL-1R1. Darüber hinaus bestehen Kontakte zwischen dem N-Acetylglucosamin-Teil von IL-1R1 und Asn216, Pro245, Tyr234 in IL-1R3 (IL-1RAP). Der ternäre Komplex aus IL-1 β , IL-1R2 und IL-1R3 (IL-1RAP) besteht aus einer hydrophoben Stelle zwischen Ile135, Ile181, Leu180 in IL-1R3 (IL-1RAP) und Val 173, Leu180 in IL-1R2. Es konnten keine signifikanten Änderungen in der Interaktion von IL-1 β und IL-1R3 (IL-1RAP) zwischen den Komplexen mit IL-1R1 und IL-1R2 gefunden werden. Diese Ergebnisse stammen aus menschlichen *in vitro*-Modellen, die mittels Kristallographie ausgewertet wurden (Thomas et al., 2012).

Die Verknüpfung von IRAK4 mit MYD88, als Teil der Bildung des Myddosoms, erhöht dramatisch die lokale Konzentration von IRAK4, die wiederum für die Dimerisierung und dessen allosterische Aktivierung sorgt. Die Daten wurden durch Röntgenanalysen an menschlichen *in vitro*-Modellen erhoben (Ferraro et al., 2014).

Der durch IL-1 induzierte aktive „Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type A“ (PTPRA) und die „FAT“ Domäne von „Protein Tyrosine Kinase 2“ (PTK2) verbinden sich mit „Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor Type 1“ (ITPR1). Dabei formen die Proteine PTPRA und PTK2 ein Verbindungsstück, dass ITPR1 mit „SRC Proto-Oncogene, Non-Receptor Tyrosine Kinase“ (SRC) verbindet (Wang et al., 2016). Die direkte Interaktion zwischen PTK2 und PTPRA ist abhängig von der „FAT“ Domäne der PTK2 und der nah an der Zellmembran liegenden Phosphatase Domäne von PTPRA (Wang et al., 2014). In fokalen Adhäsionen findet man in räumlicher Nähe die Proteine „NADH:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit AB1“ (NDUFAB1), phosphorylierte MAPK1 und entweder MYD88 oder IRAK1 (Wang et al., 2018). Das Molekül „Protein Tyrosine Phosphatase Non-Receptor Type 11“ (PTPN11) besitzt im dephosphorylierten Zustand eine größere Affinität zu PTPRA (Wang et al., 2010b). IL-1 sorgt für die Anreicherung von „HRAS Proto-Oncogene, GTPase“ (HRAS), „KRAS Proto-Oncogene, GTPase“ (KRAS) und „NRAS Proto-Oncogene, GTPase“ (NRAS) in fokalen Adhäsionen. Diese Anreicherung ist zu einem gewissen Teil abhängig von „Ras Protein Specific Guanine Nucleotide Releasing Factor 1“ (RASGRF1) und „Ras Protein Specific Guanine Nucleotide Releasing Factor 2“ (RASGRF2), um die IL-1 Signaltransduktion zu MAPK1 zu ermöglichen (Wang et al., 2011). Diese Beobachtungen konnten mithilfe von Immunoblots an menschlichen Fibroblasten (HGF) oder an Fibroblasten von Mäusen (MEF) gemacht werden.

Das Protein „YOD1 Deubiquitinase“ (YOD1) bindet an TRAF6 in ruhenden Zellen und beeinflusst die C-terminale Substratbindung. Durch IL-1 wird eine Aufspaltung dieses Komplexes verursacht, welche die Zugänglichkeit zu „Sequestome 1“ (SQSTM1) und damit dessen Ubiquitinierung beeinflusst. Diese Daten wurden durch Immunoblots an menschlichen HEK293-, HeLa- und HUVEC-Zellen erhoben werden (Schimmack et al., 2017).

Das von IL-1 β mittelbar aktivierte NF κ B1 bindet an den Promotor eines seiner Zielgene, dem „DNA Damage Inducible Transcript 3“ (DDIT3), was mithilfe von Immunoblots an INS-1-Zellen von Ratten entdeckt wurde (Shao et al., 2010).

Der Komplex aus IL-1 α , IL-1R1 und IL-1R3 (IL-1RAP) aktiviert die Kinasen MAPK1 und MAPK3. Ebenso aktiviert wird die Expression von IL-6. Beide Informationen konnten durch Immunoblots an Gliazellen von Mäusen gewonnen werden (Nguyen et al., 2011).

IL-1 β verursacht die Verknüpfung von „Caveolin 1“ (CAV1) mit TRAF6, die weitere Signalkaskade läuft über die Kinase MAPK14 und „MAPK Activated Protein Kinase 2“ (MAPKAPK2). Die Daten wurden mittels Immunoblots und Inhibitionsexperimenten an menschlichen Endothelzellen (HUVEC) erhoben (Jagielska et al., 2012).

Immunoblots konnten belegen, dass die Proteine „Catenin Beta 1“ (CTNNB1) und „RELA Proto-Oncogene, NF κ B Subunit“ (RELA) in menschlichen Knorpelzellen Komplexe bilden, die RELA und dessen Zielgene inhibieren (Ma et al., 2012).

Das Enzym „Ubiquitin Specific Peptidase 4“ (UPS4) verhindert die per Lys63 verbundene Polyubiquitinisierung von TRAF6 und folglich verhindert das Enzym ebenfalls die NF κ B und „Activator Protein 1“ (AP1) abhängige Transkription. An menschlichen HeLa-Zellen konnten diese Ergebnisse mithilfe von Immunoblots gezeigt werden (Zhou et al., 2012).

Die Bindung von IRAK4 an IRAK1 oder MYD88 ist abhängig von der Seitenkette an Arginin an Position 12 (Arg12) von IRAK4 oder der Seitenkette an der Glutaminsäure an Position 102 von MYD88. Durch die Aktivierung von IL-1R1 mit IL-1 β wird zusammen mit MYD88 und IRAK4 ein Komplex gebildet, der als das frühe Myddosom bezeichnet wird. Diese Erkenntnisse stammen aus Immunoblots an menschlichen Fibroblasten (De et al., 2018).

Für die von „Cyclin Dependant Kinase 6“ (CDK6) unterstützte Rekrutierung von RELA wird MAPK14 benötigt. Das funktionale Zwischenspiel von CDK6 und RELA im Zellkern erfolgt über die gleichzeitige Bindung an die Promotorregionen inflammatorischer Gene. Dies wiederum erhöht die Bildung von Entzündungsmediatoren über eine MAP3K7 abhängige Art und Weise, was mithilfe von Immunoblots an

menschlichen Epithelzellen (HeLa) gezeigt werden konnte (Handsick et al., 2014) (vgl. Abbildung 13).

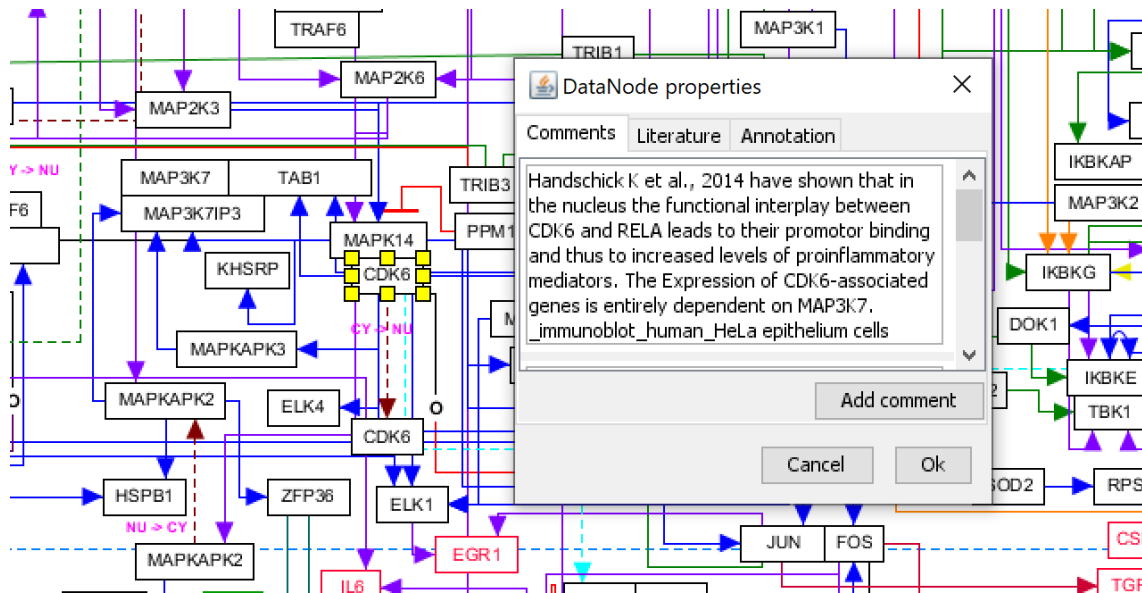


Abbildung 13: Beispielhafte Darstellung der Implementierung von physikalischen Interaktionen in die IL-1-Signaltransduktionskarte.

Durch einen Doppelklick mit der linken Maustaste auf das betreffende Molekül, oder den betreffenden Interaktionspfeil werden die Informationen der recherchierten physikalischen Interaktionen angezeigt. Hinterlegt sind der Autor, das Publikationsjahr, die eigentlichen Informationen über die Interaktion, der verwendete Versuchsaufbau, die Spezies des Gewebes und der verwendete Zelltyp. Unter dem Reiter *Literature* findet sich die Quellenangabe mit dem direkten Link zur Publikation in der Datenbank *PubMed*.

3.1.2.1.3 Neu erstellte enzymatische Katalysen

Die Autophosphorylierung von MAP3K7 findet an Threonin in Position 187 (Thr187) statt und wird durch IL-1 β verursacht. Diese Autophosphorylierung ist unabhängig von der Bindung der Lys63 Ubiquitinketten an „TGF-Beta Activated Kinase 1 (MAP3K7) Binding Protein 2“ (TAB2) und „TGF-Beta Activated Kinase 1 (MAP3K7) Binding Protein 3“ (TAB3). Die Aktivierung des Komplexes aus MAP3K7 und TAB1 benötigt die E3 Ligase von TRAF6 und Ubiquitinketten. Durch genetische Knockout-Modelle an menschlichen HEK293 Zellen wurden diese Daten erhoben (Zhang et al., 2017).

Die Lys63 Ubiquitinierung von „Interferon Regulatory Factor 1“ (IRF1) wird durch BIRC3 vermittelt. Dafür wird S1P benötigt, welches an BIRC3 und nicht an BIRC2 bindet. Die Bindung der Lys63 Ubiquitinketten an BIRC3 benötigt die katalytische Aktivität von TRAF6, denn TRAF6 aktiviert IRF1 nicht direkt. Dies konnte mittels Expression an menschlichen HEK293-Zellen gezeigt werden (Harikumar et al., 2014).

Das Protein „ATM Serine/Threonine Kinase“ (ATM) bindet TRAF6 über seine TRAF6 Bindungsfläche und unterstützt die ATM abhängige Bindung von Lys63 Ubiquitinketten an TRAF6. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass BIRC2 das Protein IKBKB an Position Lys285 ubiquitiniert. Dieser Schritt ist für die Aktivierung von IKK und NFkB eine Voraussetzung, was mithilfe von Immunoblots an menschlichen Leberzellen (HepG2) beschrieben wurde (Hinz et al., 2010).

Nicht nur IKBKB, sondern auch CHUK und RELA steuern ihren Teil zur Phosphorylierung von NFkB1 bei. IKBKE und „TANK Binding Kinase 1“ (TBK) inhibieren CHUK und IKBKB und dementsprechend wird die Aktivierung von NFkB gehemmt. Dies wurde durch Inkubations- und Transfektionsversuche an humanen und murinen Zellen (HEK293, MEF und RAW 264.7) herausgefunden (Clark et al., 2011).

In Fibroblasten der Maus konnte gezeigt werden, dass CHUK für die Phosphorylierung von „Tax1 Binding Protein 1“ (TAX1BP1) an Ser593 und Ser624 vonnöten ist. TAX1BP1 selbst verhindert die Lys63 verbundene Polyubiquitinierung von TRAF6, welche essenziell für die Herunterregulation von NFkB ist. Zusätzlich verhindert TAX1BP1 die Lys63 verbundene Polyubiquitinierung von „Receptor Interacting Serine/Threonine Kinase 1“ (RIPK1), welche ebenfalls essenziell für die Herunterregulation von NFkB ist. Die Phosphorylierung von JNK wird von TAX1BP1 gehemmt, auch sie ist unabdingbar für die Herunterregulation von NFkB. Die Daten wurden durch Immunoblots an MEF-Zellen erhoben (Shembade et al., 2011).

In Zellen von Menschen und Mäusen (HEK293 und MEF) konnte durch Immunoblots und Inhibition gezeigt werden, dass IRAK1 die Aktivierung von endogener „Pellino E3 Ubiquitin Protein Ligase 1“ katalysiert (Goh et al., 2012).

Der Aktivierungsprozess von IKBKB wird durch eine von MAP3K7 katalysierte Phosphorylierung von IKBKB an Ser177 gestartet. Dieser Prozess wird von einer Autophosphorylierung von IKBKB an Ser181 gefolgt, wodurch IKBKB letztlich aktiv ist. Das Enzym MAP3K7 katalysiert ebenfalls eine Phosphorylierung an Ser176, welche die Aktivierung von CHUK startet. Die Aktivierung wird durch die Autophosphorylierung von CHUK an Ser180 vollendet. Diese Informationen wurden per Immunoblots an MEF-Zellen gewonnen (Zhang et al., 2014).

Die Autophosphorylierung der Ser443 Mutante von MAP3K8 ist unabhängig von der Phosphorylierung an Ser400 und von IKBKB. Sie benötigt jedoch die Stimulation durch

IL-1 β , was mittels Immunoblots an HEK293-Zellen herausgefunden wurde (Ben-Addi et al., 2014).

Das Enzym „Dual Specificity Phosphatase 14“ (DUSP14) dephosphoryliert MAP3K7 an Thr187. Immunoblots an HEK293-Zellen konnten dies zeigen (Zheng et al., 2013).

Das Protein PTPRA ist in der Lage sowohl SRC, als auch „FYN Proto-Oncogene, Src Family Tyrosine Kinase“ (FYN) zu dephosphorylieren und damit zu aktivieren. Gearbeitet wurde mithilfe von Immunoblots an MEF-Zellen (Wang et al., 2016).

Durch den Stimulus von IL-1 deglutathionyliert das Enzym „Glutaredoxin“ (GLRX) das Protein TRAF6. Dieser Schritt ist für die Polyubiquitinierung von TRAF6 und die darauffolgende NF κ B Aktivierung entscheidend. Hierfür wurden HEK293- und HeLa-Zellen per Immunoblot ausgewertet (Chantzoura et al., 2010).

PTPRA ist bei der Autophosphorylierung von „Protein Tyrosin Kinase 2“ (PTK2) an Tyr397 von großer Bedeutung, was mithilfe von Immunoblots an MEF-Zellen ermittelt wurde (Wang et al., 2014).

IL-1 β induziert die Aktivierung von SRC, was zur Phosphorylierung von „Glutamate Ionotropic Receptor NMDA Type Subunit 2B“ (GRIN2B) an Tyr1472 und dessen Expression an der Zellmembran führt. Das Enzym „Protein Kinase C Zeta“ (PRKCZ) wird durch MAPK14 gebunden und an Thr560 dephosphoryliert. Die Aktivierung von SRC führt zur Phosphorylierung von „Protein Kinase C Delta“ (PRKCD). Die so aktivierte PRKCD phosphoryliert GRIN2B an Ser1303 und dephosphoryliert „Glutamate Ionotropic Receptor AMPA Type Subunit 1“ (GRIA1) an Ser831, was dessen Expression an der Zellmembran verringert. Diese Daten wurden per Immunoblot und Inhibition an hippocampalen Neuronen von Ratten erhoben (Taoro-Gonzalez et al., 2018).

Das Protein „Protein Tyrosine Phosphatase Non-Receptor Type 11“ (PTPN11) wird durch PTPRA mithilfe seiner nahe an der Membran liegenden Phosphatase Domäne dephosphoryliert. Diese Information wurde durch Immunoblots an menschlichen HGF-Zellen gewonnen (Wang et al., 2010b).

Das Enzym „Glycogen Synthase Kinase 3 Alpha“ (GSK3A) phosphoryliert die „AKT Serine/Threonine Kinase 1“ (AKT1) an Threonin308 und unterdrückt dessen Aktivität. Außerdem blockiert es die stimulatorische Phosphorylierung von AKT1 an Thr308. GSK3A selbst wird durch IKBKE an Ser21 phosphoryliert, was an einem *in vitro*-Modell

aus menschlichem Gewebe per Immunoblot und *in vitro kinase assay* gezeigt wurde (Gulen et al., 2012).

Die „Histone Deacetylase 1“ (HDAC1) deacetyliert RELA an Lys314 und Lys315. Die „Histone Deacetylase 2“ (HDAC2) deacetyliert RELA ebenfalls an Lys 314 und Lys315. Die „Histone Deacetylase 3“ (HDAC3) deacetyliert RELA an Lys122, Lys123, Lys314 und Lys315. Diese Daten wurden durch Immunoblot und Inhibition an HEK293-Zellen gesammelt (Ziesche et al., 2013) (vgl. Abbildung 14).

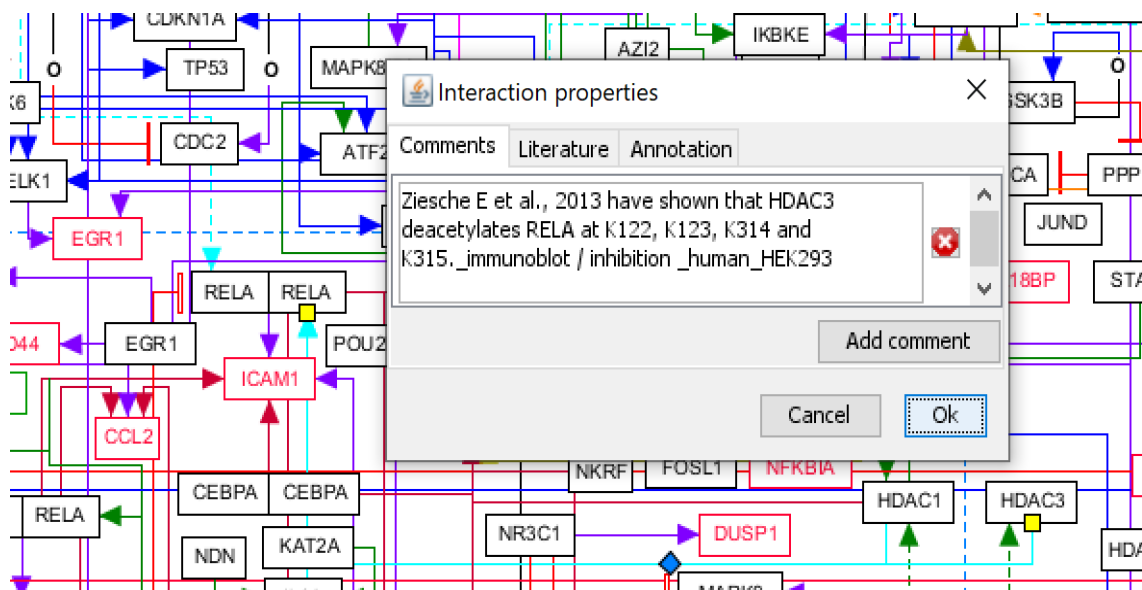


Abbildung 14: Beispielfhafte Darstellung der Implementierung von enzymatischen Katalysen in die IL-1-Signaltransduktionskarte.

Durch einen Doppelklick mit der linken Maustaste auf das betreffende Molekül, oder den betreffenden Reaktionspfeil, werden die Informationen der recherchierten enzymatischen Katalysen angezeigt. Hinterlegt sind der Autor, das Publikationsjahr, die eigentlichen Informationen über die Interaktion, der verwendete Versuchsaufbau, die Spezies des Gewebes und der verwendete Zelltyp. Unter dem Reiter *Literature* findet sich die Quellenangabe mit dem direkten Link zur Publikation in der Datenbank *PubMed*.

3.1.2.1.4 Neu erstellte Transportvorgänge

Das Protein „RELA Proto-Oncogene, NFKB Subunit“ (RELA) wird IL-1 induziert vom Cytosol zum Zellkern transportiert, was mithilfe von Immunofluoreszenz an „3T3-L1delta1CAR“-Zellen von Mäusen gezeigt werden konnte (Mancini et al., 2017).

Der Transport von aktivierter MAPK1 und MAPK3 vom Zytosol zum Zellkern wird durch IL-1 β induzierte Stimulation hervorgerufen. Diese Informationen konnten mittels Immunofluoreszenz an uterinen „LE“-Zellen von Schweinen ermittelt werden (Jeong et al., 2016).

IL-1 Signaltransduktionswege, die über MAP3K7 zu MAPK14 verlaufen, verursachen die Verschiebung von CDK6 vom Zytosol in den Zellkern. Dieses konnte mittels Immunofluoreszenz an menschlichen HeLa-Zellen belegt werden (Handschiek et al., 2014) (vgl. Abbildung 15).

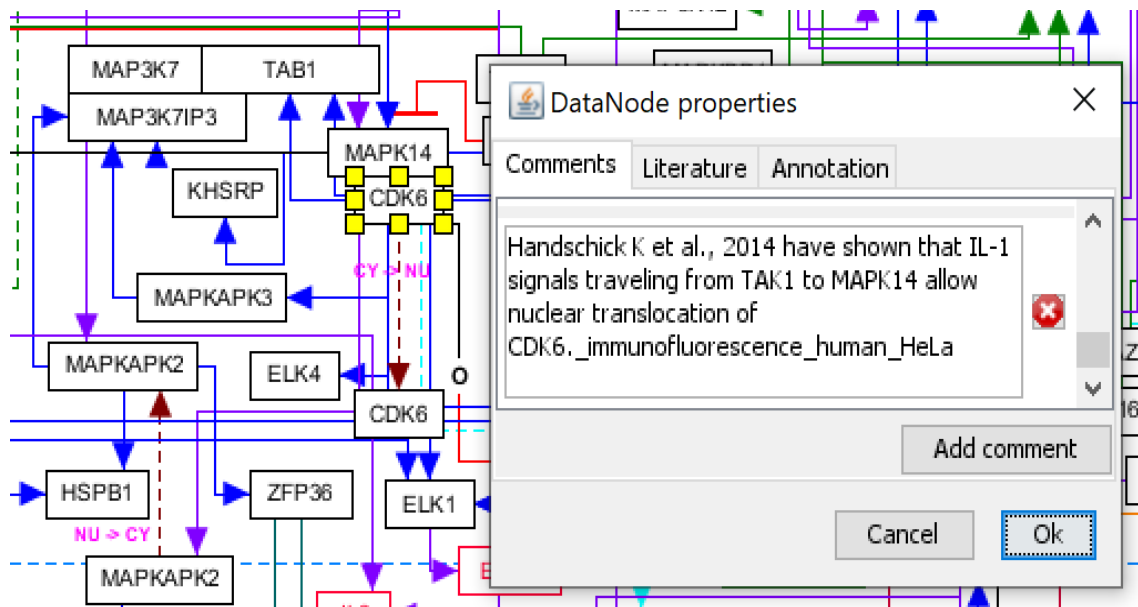


Abbildung 15: Beispielhafte Darstellung der Implementierung von Transportvorgängen in die IL-1-Signaltransduktionskarte.

Durch einen Doppelklick mit der linken Maustaste auf das betreffende Molekül, oder den betreffenden Transportpfeil werden die Informationen der recherchierten enzymatischen Katalysen angezeigt. Hinterlegt sind der Autor, das Publikationsjahr, die eigentlichen Informationen über den Transportvorgang, der verwendete Versuchsaufbau, die Spezies des Gewebes und der verwendete Zelltyp. Unter dem Reiter *Literature* findet sich die Quellenangabe mit dem direkten Link zur Publikation in der Datenbank *PubMed*.

3.1.2.1.5 Widerlegte Reaktionen

Die Zytokine IL-1 α oder IL-1 β sind nicht in der Lage die Expression von MMP3 zu induzieren. Diese Ergebnisse wurden durch Immunoblots an menschlichen Makrophagen gewonnen (Beltrami-Moreira et al., 2016) (vgl. Abbildung 16).

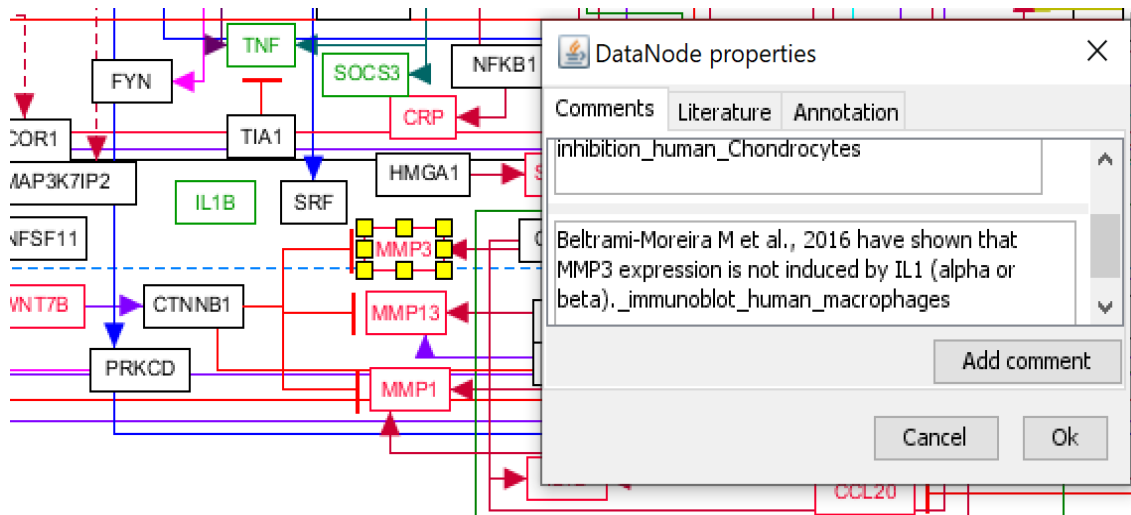


Abbildung 16: Beispielhafte Darstellung der Implementierung von widerlegten Reaktionen in die IL-1-Signaltransduktionskarte.

Durch einen Doppelklick mit der linken Maustaste auf das betreffende Molekül, oder den betreffenden Reaktionspfeil, werden die Informationen der recherchierten widerlegten Reaktionen angezeigt. Hinterlegt sind der Autor, das Publikationsjahr, die eigentlichen Informationen über den Transportvorgang, der verwendete Versuchsaufbau, die Spezies des Gewebes und der verwendete Zelltyp. Unter dem Reiter *Literature* findet sich die Quellenangabe mit dem direkten Link zur Publikation in der Datenbank *PubMed*.

3.1.2.1.6 Nicht in die IL-1-Signaltransduktionskarte übernommene Daten

Die IL-1 Signalwege aktivieren NFKB1 und verursachen dessen Transport vom Zytosol in den Zellkern. Das Protein Capicua kann zusammen mit NFKB1 an hoch oder niedrig affinen AT-Mustern von Zielgenen binden und damit deren Transkription unterdrücken. Toll-Signaltransduktionswege unterstützen die von Capicua vermittelte Unterbindung der Transkription, dieser Prozess läuft unabhängig von „Receptor Tyrosine Kinasen“ (RTK) ab. Diese Daten wurden durch Expressionsanalysen an Embryonalzellen der *Drosophila* erhoben (Papagianni et al., 2018).

3.2 Projektion von genomweiten Transkriptom- und Proteomdaten zu posttranslationalen Modifikationen auf die IL-1 Signaltransduktionskarte

Um den „praktischen“ Nutzen der IL-1 Signaltransduktionskarte zu demonstrieren und um die virtuellen Einträge aus der Literatur anhand von experimentellen Daten zu validieren, wurden im letzten Teil der Arbeit bereits veröffentlichte hochdichte mRNA Expressionsdaten aus Mikroarray Experimenten und unveröffentlichte Proteomdaten zu post-translationalen Modifikationen (PTMs) aus LC-MS/MS Experimenten der AG Kracht genutzt. Diese Daten wurden in mit IL-1 stimulierten humanen epithelialen HeLa

Karzinomzellen erhoben, einem vielfach genutzten Modellsystem zur Untersuchung der molekularen Vorgänge bei der IL-1 Signaltransduktion (Weiterer et al., 2020; Jurida et al., 2015).

Wie in Abb. 17A zu sehen ist, wurden in für 1 h mit IL-1 stimulierten HeLa Zelllinien 93 Gene auf mRNA Ebene reguliert (mehr als 3-fach mit einem p Wert < 0.5). Die Regulation erfolgte dabei größtenteils durch Induktion der mRNA. Abb. 17B zeigt die 20 am stärksten IL-1-regulierten Gene in den jeweils vier biologisch unabhängigen Replikaten aus den unstimulierten und stimulierten Zellen.

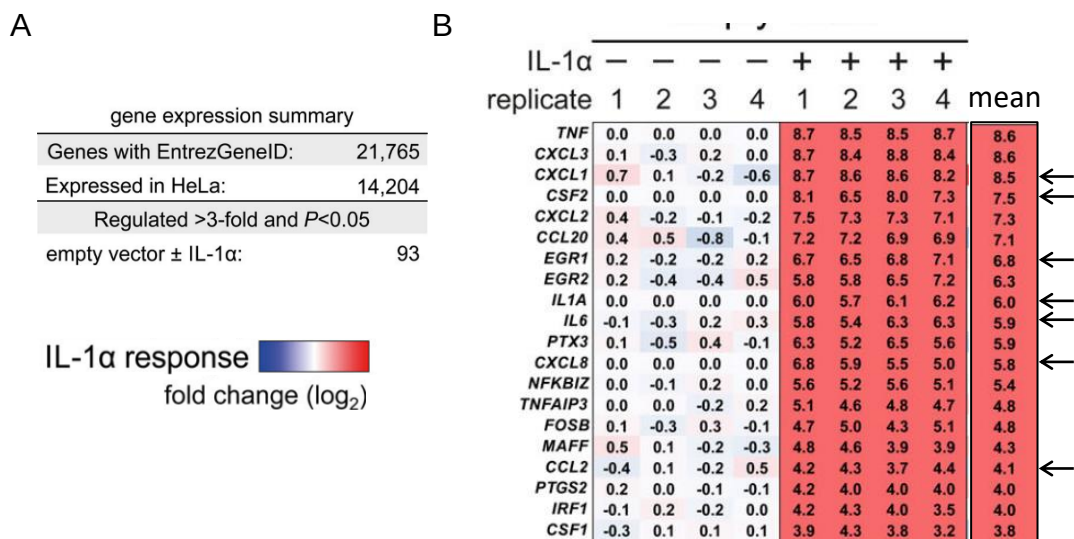


Abbildung 17: Zusammenfassung der IL-1-induzierten Transkriptomreaktion in der humanen epithelialen Karzinomzelllinie HeLa. (A) Von 21.765 annotierten, kodierenden Genen wurden in den HeLa Zellen mit Hilfe von Mikroarrays 14.204 Gene als exprimiert identifiziert. Im Vergleich zu unbehandelten Zellen wurden im Mittel über die vier biologisch unabhängigen Replikate 93 mehr als 3-fach durch IL-1 α (10 ng / ml) reguliert (p -Wert < 0,5). (B) Die *Heatmap* zeigt die $\log_2$ -transformierten Ratio Werte (unstimuliert / Mittelwert unstimuliert oder IL-1-stimuliert / Mittelwert unstimuliert) der Top 20 IL-1-induzierten Gene über alle Replikate. Die Transkripte sind im Mittel zwischen $2^{3.8}$ (14,9-fach; CSF1) und $2^{8.6}$ (388-fach; TNF und CXCL3) reguliert. Die mit einem schwarzen Pfeil markierten Gene sind in Abb. 18 in der IL-1 Karte abgebildet. Die Abbildung wurde modifiziert aus „Figure EV2. Analyses of mRNA stabilities and the global IL-1 α gene expression response in enhancer-mutant HeLa.“ aus dem Manuskript Weiterer et al., 2020. Reproduziert mit der freundlichen Erlaubnis von: Open Access Article.

Abb. 18 zeigt jetzt die mRNA Expressionswerte aus diesem Datensatz als Projektion in der IL-1 Karte. Hierbei wird eine vierfache Kodierung verwendet. Grau kodiert sind Elemente aus der Karte, die in HeLa Zellen nicht exprimiert sind. Grün kodiert sind Elemente, die auf mRNA Ebene in den Zellen nachgewiesen wurden, die aber nicht IL-1-reguliert sind (Abb. 18A). Die weiße und rote Kodierung zeigt die Regulation durch

IL-1 an. Dieses Vorgehen ist in Abb. 18B beispielhaft anhand der Legende und dem IL-1 Ligand / Rezeptorkomplex dargestellt. Die Transkripte der Gene IL1A (kodiert für das Protein IL-1 α) und IL1B (kodiert für das Protein IL-1 β) sowie die Proteinkinase IRAK2 sind basal in den Zellen exprimiert (daher grün kodiert) und werden nach IL-1 Stimulation induziert. Das heißt, hier lässt sich erkennen, dass IL-1 in den HeLa Zellen in prototypischer Art und Weise über einen autokrinen Mechanismus seine eigene Expression aktiviert, so wie in der Einleitung für viele Zelltypen beschrieben. Die Gene IL1RAP, MYD88 und IRAK1 und IRAK4 sind dagegen zwar exprimiert, werden aber nicht nennenswert auf mRNA Ebene reguliert, während das Gen SARM1 in den HeLa Zellen nicht exprimiert und daher grau kodiert ist.

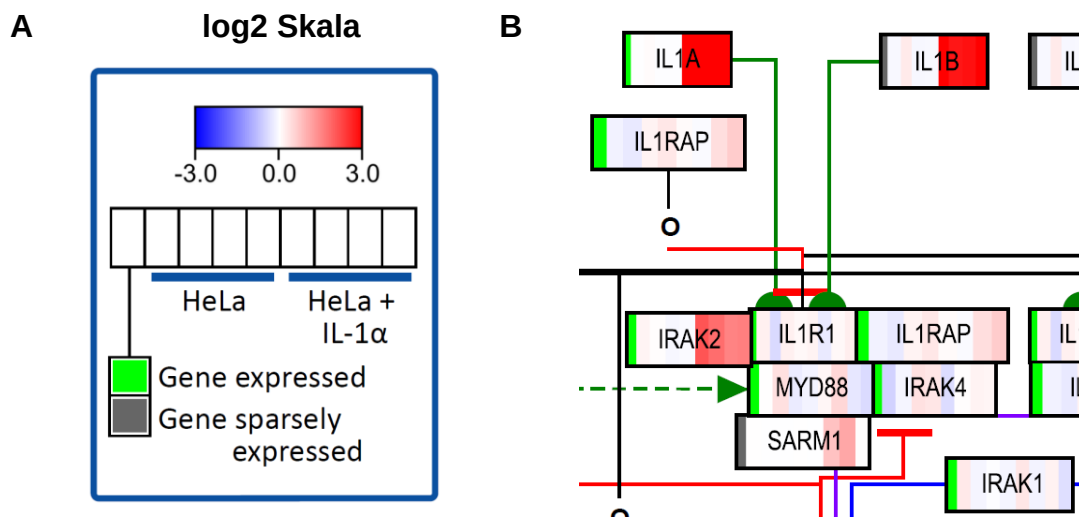


Abbildung 18: Beispielhafte Projektion der mRNA Expressionsdaten auf die IL-1 Karte anhand des signaltransduzierenden IL-1 Rezeptorkomplexes.

(A) Die Graphik zeigt die Legende zur Zuordnung der mRNA Expressionswerte. Es werden pro Komponente aus der Karte neun Spalten verwendet. Spalte 1 bezeichnet den Zustand exprimiert (grün) oder nicht / schwach exprimiert (grau). Die Spalten 1-4 geben die mRNA Ratios (unstimuliert / Mittelwert unstimuliert) und die Spalten 5-8 die Ratios (IL-1-stimuliert / Mittelwert unstimuliert) für die acht unabhängigen Experimente wieder. Die Ratiowerte wurden je nach Regulation von blau (reprimierte mRNA Expression), weiß (keine Änderung der mRNA Expression) nach rot (Induktion der mRNA Expression) in einem log2-Maßstab koloriert. (B) Kartierung der experimentell ermittelten mRNA Expressionsänderungen im IL-1-Rezeptorkomplex.

Eine weitere vergrößerte Darstellung zeigt die stark regulierten Gene EGR1, c-JUN (JUN), CCL2, IL6, IL8, ICAM1, CSF2, FOSL1, NFKBIA und SELE (SELECTIN E). Man erkennt durch die Darstellung der (bekannten) Signalpfade, wie komplex die einzelnen molekularen Reaktionen sind, welche für die mRNA Induktion dieser Gene zusammen verschaltet werden (Abb. 19).

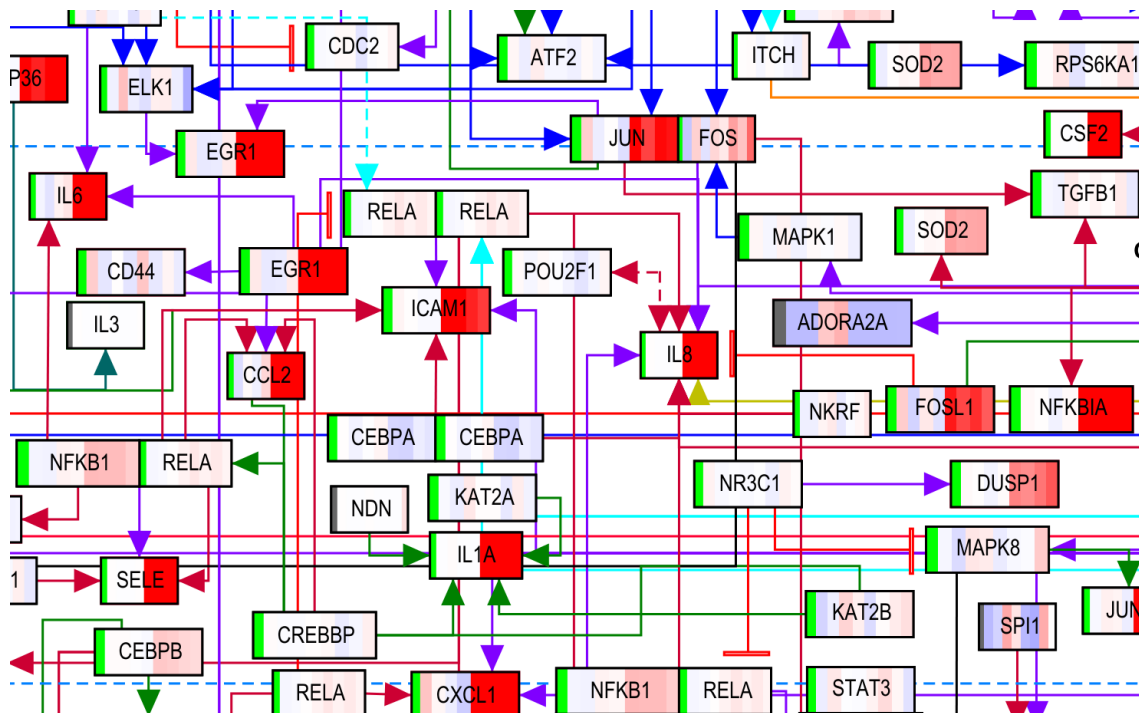


Abbildung 19: Projektion von mRNA Änderungen wichtiger IL-1 Zielgene auf die IL-1 Karte.
Die Legende entspricht derjenigen in Abb. 18A.

In Abb. 20 ist schließlich die komplette IL-1 Karte mit der Projektion aller mRNA Expressionsdaten in der Übersicht dargestellt. Man erkennt anhand der Rotfärbung, dass der größte Teil der Regulation des Transkriptoms im distalen Teil der Karte lokalisiert ist, übereinstimmend damit, dass dort die Zielgene eingezeichnet worden sind. Die Signalkomponenten im mittleren Teil der Karte sind dagegen überwiegend nicht auf mRNA Ebene reguliert.



Abbildung 20: Komplette Darstellung der IL-1 Signaltransduktionskarte mit der Projektion von genomweiten Transkriptom Daten. Abgebildet sind die relativen mittleren mRNA Änderungen in HeLa Zellen nach einer 1h IL-1 α Stimulation. Die mRNA Transkriptom Daten wurden mittels Microarray Experimenten aus vier biologischen Replikaten erhoben. Änderungen der Genexpression sind farbkodiert im log₂ Maßstab abgebildet. Für Details zu Skalen und Legenden siehe Abb. oder auch Abb. 7 und 18.

Daher war es sehr interessant, das Muster der Regulation der Komponenten der IL-1 Karte auch auf Proteinebene anhand von experimentell ermittelten Daten ebenfalls als Projektion und vergleichend zu den mRNA Daten darzustellen. Hierzu wurden unveröffentlichte Daten zur Phosphorylierung, Acetylierung und Ubiquitinierung im IL-1 System der AG Kracht verwendet. Wie im Methodenteil ausführlich beschrieben, wurden hierfür Ganzzellextrakte von für 5 min., 0.5 h, 1 h, 3 h und 6 h mit IL-1-stimulierten oder unbehandelten HeLa Zellen mit der Protease Trypsin verdaut, um die zellulären Proteine in Peptide zu spalten. Die modifizierten Peptide wurden sodann von der Gesamtheit aller entstandenen Peptide mittels Affinitätsmatrices abgetrennt. Die Anreicherung von phosphorylierten Peptiden erfolgte durch die sogenannte *immobilized metal affinity chromatography* (IMAC) unter Verwendung von immobilisierten Fe³⁺ Matrices, welches mit den negativ geladenen Phosphatgruppen von Phosphopeptiden interagieren. Die Anreicherung von acetylierten oder ubiquitinierten Peptiden erfolgte dagegen durch an Matrices immobilisierte hochspezifische Antikörper, welche entweder ein acetyliertes Lysin (Lysine acetylation antibody (#13420), CST) oder die beiden C-terminalen Glycinreste erkennen, welche nach der tryptischen Abspaltung einer kovalent verknüpften Ubiquitinkette von dem epsilon Kohlenstoffatom eines Lysins übrigbleiben (Ubiquitin remnant antibody (#3925)).

Die angereicherten, posttranslational modifizierten Peptide aus den Zellextrakten wurden anschließend mittels HPLC getrennt. Aus den einzelnen Fraktionen heraus wurden die Peptide ionisiert und mittels Tandem Massenspektrometrie ihre genauen Massen(änderungen) und Sequenzen ermittelt. Die Intensitäten eines jeweiligen modifizierten Peptides unter dem entsprechenden HPLC Peak vor und nach IL-1 α Behandlung wurden anschließend über den gesamten Datensatz normalisiert und als Ratiowert (in Analogie zu der Berechnung der Regulation von mRNAs) dargestellt. Die Filterungen dieser Ratiowerte für die jeweiligen phosphorylierten, acetylierten, oder ubiquitinierten Peptide ergaben dann die Anzahl an regulierten posttranslationalen Modifikationen der den Peptiden zugeordneten Proteine bzw. der korrespondierenden Gen(namen). Die Behandlung der HeLa Zellen mit IL-1 α und die Herstellung der

Gesamtzellextrakte erfolgte durch Helmut Mueller (AG Kracht), die Herstellung, Anreicherung und Analyse der Peptide durch Cell Signaling Technology (CST) im Rahmen des PTMScan® Services. Die nachfolgenden Auswertungen und Darstellungen der von CST übergebenen Daten erfolgten durch Dr. Axel Weber und Prof. Michael Kracht in der AG Kracht.

Die Tabelle 5 zeigt eine Übersicht über die regulierten und nicht regulierten posttranslational modifizierten Peptide / Proteine in unbehandelten und IL-1 behandelten Zellen. Insgesamt wurden 21.917 Phospho-Peptide, 9.327 ubiquitinierte und 2.875 acetylierte Peptide identifiziert.

time point (IL-1) type of scan	5 min			30 min			60 min			180 min			360 min		
	phospho	ubi	acet	phospho	ubi	acet	phospho	ubi	acet	phospho	ubi	acet	phospho	ubi	acet
3-fold up peptides	165	6	2	391	54	5	550	27	13	609	62	16	540	99	13
3-fold down peptides	21	7	0	36	24	4	33	25	0	56	32	3	90	34	3
2-fold up peptides	907	22	16	1294	298	69	1632	184	104	1629	269	64	1482	386	62
2-fold down peptides	114	51	6	286	192	43	282	151	14	330	187	21	418	247	32
1.5-fold up peptides	2659	179	69	3306	995	320	3597	787	355	3582	900	231	3577	1187	212
1.5-fold down peptides	539	220	50	2411	890	232	1926	739	192	1984	858	146	2000	936	163
3-fold up genes	133	6	2	276	41	5	382	23	11	407	42	11	354	57	11
3-fold down genes	14	7	0	27	19	2	20	17	0	38	23	2	62	30	2
3-fold up OR down genes	144	13	2	302	60	7	397	40	11	436	65	13	408	87	13
2-fold up genes	611	22	15	769	196	61	920	142	83	952	178	43	852	232	44
2-fold down genes	74	46	5	170	148	35	166	116	14	187	130	19	243	183	29
2-fold up OR down genes	670	68	20	906	339	95	1029	252	97	1083	306	62	1031	409	72
1.5-fold up genes	1419	158	62	1546	568	222	1691	533	253	1723	541	173	1627	673	151
1.5-fold down genes	284	181	48	813	596	186	769	499	162	788	532	119	846	602	139
1.5-fold up OR down gene	1590	331	106	2107	1095	402	2153	977	396	2206	1021	283	2150	1194	278
# modified K sites	0	9949	3238	0	9948	3238	0	9949	3238	0	9949	3238	0	9949	3238
# pS sites	24145	0	0	24145	0	0	24145	0	0	24145	0	0	24145	0	0
# pT sites	7144	0	0	7144	0	0	7144	0	0	7144	0	0	7144	0	0
# pY sites	1390	0	0	1390	0	0	1390	0	0	1390	0	0	1390	0	0
total # p sites	32679	0	0	32679	0	0	32679	0	0	32679	0	0	32679	0	0
total # detected Peptides	21917	9327	2875	21917	9326	2875	21917	9327	2875	21917	9327	2875	21917	9327	2875
total # detected Genes	4806	3231	1443	4806	3231	1443	4806	3231	1443	4806	3231	1443	4806	3231	1443

Tabelle 5: Gesamtzahl aller modifizierten Peptide und der korrespondierenden Gen-/ Proteinennamen. Daten erhalten von Dr. Axel Weber.

In Abbildung 21 sind die gemeinsamen und spezifischen sowie die regulierten PTMs nach Stimulation mit IL-1 α über 0.5h, 1h und 6h zusammengefasst. Man erkennt, dass Ubiquitinierungen und Acetylierungen deutlich seltener detektiert wurden als Phosphorylierungen. Es gibt aber z.B. immerhin 168 Proteine, deren Phosphorylierung und Ubiquitinierung durch IL-1 mindestens zweifach moduliert wurde.

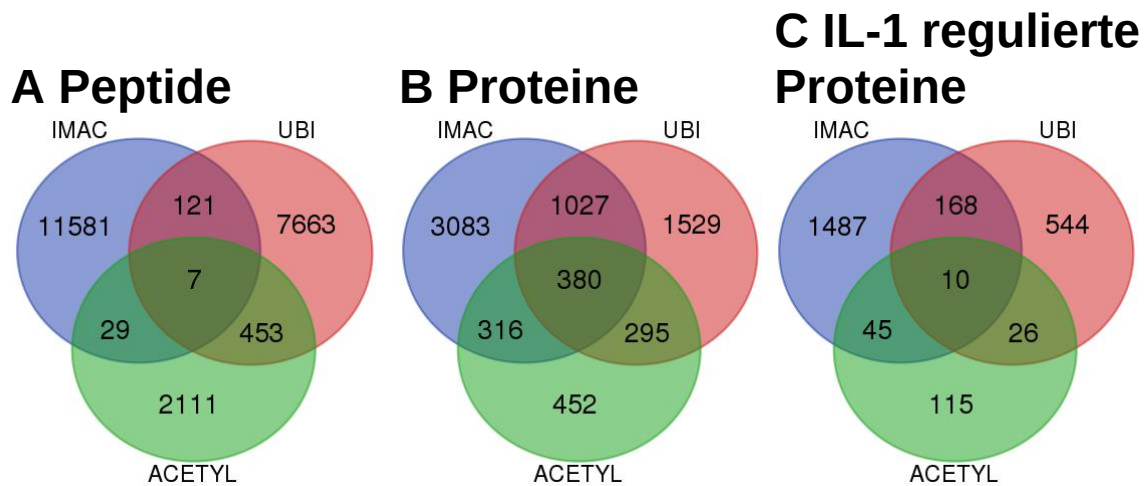


Abbildung 21: Übersicht über die Gesamtanzahl und die Überlappung von modifizierten Peptiden und korrespondierenden Proteinen / Genen. Daten erhalten von Dr. Axel Weber.

Die phosphorylierten Proteine (IMAC) werden blau, die ubiquitinierten Proteine (UBI) rot und die acetylierten Proteine (ACETYL) werden grün dargestellt. (A) Diese Darstellung bezieht sich auf alle detektierten Peptide. (B) Diese Darstellung bezieht sich auf alle detektierten Proteine. (C) Diese Darstellung bezieht sich auf alle durch IL-1 α mindestens zweifach posttranslational modifizierte Proteine.

Im Folgenden werden beispielhaft einige Bereiche der IL-1 Karte vergrößert dargestellt, um im Vergleich zu den mRNA Expressionsänderungen die Veränderungen auf Ebene der PTMs darzustellen.

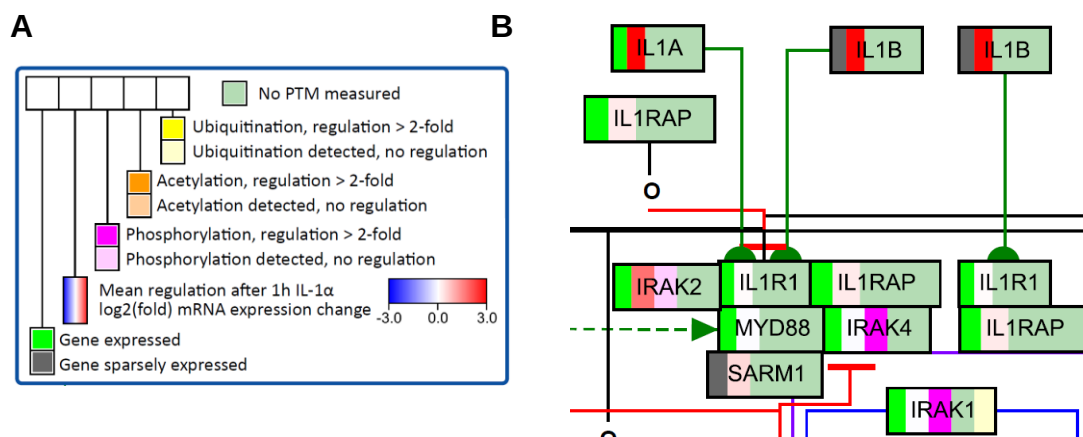


Abbildung 22: Gemeinsame Darstellung der mRNA und PTM Regulation des signaltransduzierenden IL-1 Rezeptorkomplexes.

(A) Die Graphik zeigt die Legende zur Zuordnung der mRNA Expressionwerte und der PTMs. Es werden pro Komponente aus der Karte fünf Spalten verwendet. Spalte 1 bezeichnet den Zustand auf mRNA Ebene exprimiert (grün) oder nicht / schwach exprimiert (grau). Spalte 2 gibt die mRNA Ratios (IL-1-stimuliert / Mittelwert unstimuliert) wieder. Die Spalten 3-5 zeigen an, ob das Protein phosphoryliert (lila Farbton), acetyliert (orangener Farbton) oder ubiquitiniert (gelber Farbton) vorlag. Die Intensität der Farbe in

derselben Spalte kodiert eine Regulation durch IL-1. Grünfärbungen zeigen an, dass für diese Komponente der Karte keine PTM, d.h. kein modifiziertes Peptid gemessen wurde.

(B) Kartierung von mRNA und PTMs im IL-1-Rezeptorkomplex. Der Ausschnitt entspricht demjenigen in Abb. 18B. Man erkennt, dass IRAK1 und IRAK4 nach IL-1 Behandlung phosphoryliert werden, aber auf mRNA Ebene keine Regulation stattfindet. Dieses entspricht der Literatur (Burns et al., 2003; Rao et al., 2005; Li et al., 2002b; Cheng et al., 2007). IRAK1 wird zusätzlich als ubiquitiniertes Protein detektiert, ebenfalls im Einklang mit der Literatur (Kim et al., 2012; Newton et al., 2008; Schavulie et al., 2006; Ordureau et al., 2008).

Abbildung 23 zeigt regulierte Phosphorylierungen der Transkriptionsfaktoren NFKB1 (p105 / p50) und STAT3 sowie des ATP-abhängigen Chromatinremodelierungsfaktors SMARCA4. Außerdem wurde eine regulierte Ubiquitinierung von STAT3 sowie eine IL-1-induzierte Acetylierung von CREBBP (CBP) identifiziert. CBP ist eine wichtige Histonacetyltransferase, die sich autoacetyliert (Delvecchio et al., 2013) und die aber auch an IL-1-induzierte Promotoren und Enhancer rekrutiert wird, wo sie die Histon H3 K27 Acetylierung bewirkt (Jurida et al., 2015). Diese Daten demonstrieren, wie fünf interagierende transkriptionelle Regulatoren mindestens drei unterschiedliche Modifikationen aufweisen, über deren kombinatorische Effekte vermutlich ihre Aktivität im IL-1 Signalweg beeinflusst wird. Alle fünf Faktoren sind dagegen nicht auf mRNA Ebene reguliert.

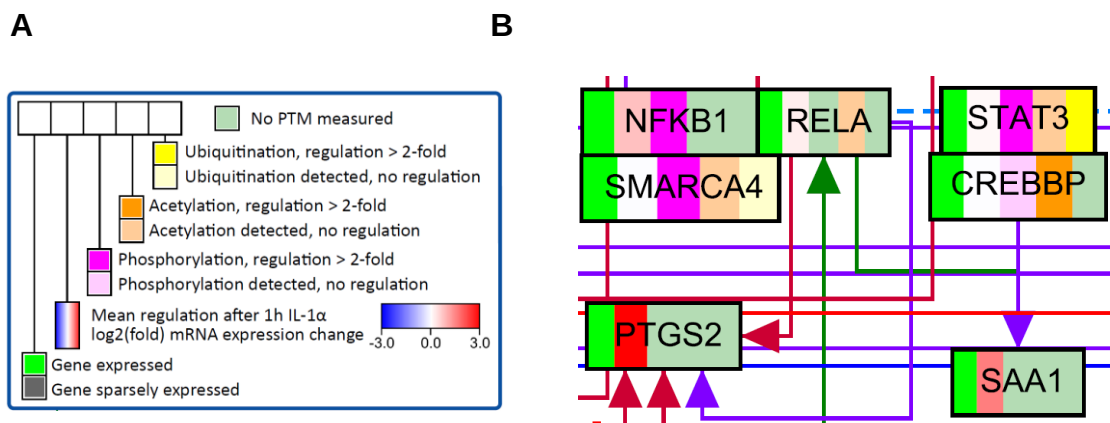


Abbildung 23: Nachweis von drei unterschiedlichen PTMs an transkriptionell aktiven Proteinen im distalen IL-1 Signalweg.

In Abb. 24 ist schließlich die komplette IL-1 Karte mit der Projektion aller mRNA Expressionsdaten und aller PTM Daten in der Übersicht dargestellt. Man erkennt, dass im Gegensatz zu den mRNAs, konstitutiv vorhandene und IL-1-regulierte PTMs im

gesamten IL-1 Signalnetzwerk zu finden sind und so vermutlich den größten Teil der IL-1 Signaltransduktion bis hin zu den Zielgenen regulieren.

Title: L1.1 Signaling Pathway
 Availability: Freely available under CC-BY
 Organism: Homo sapiens
 Data Source: UniProt, KEGG, Reactome

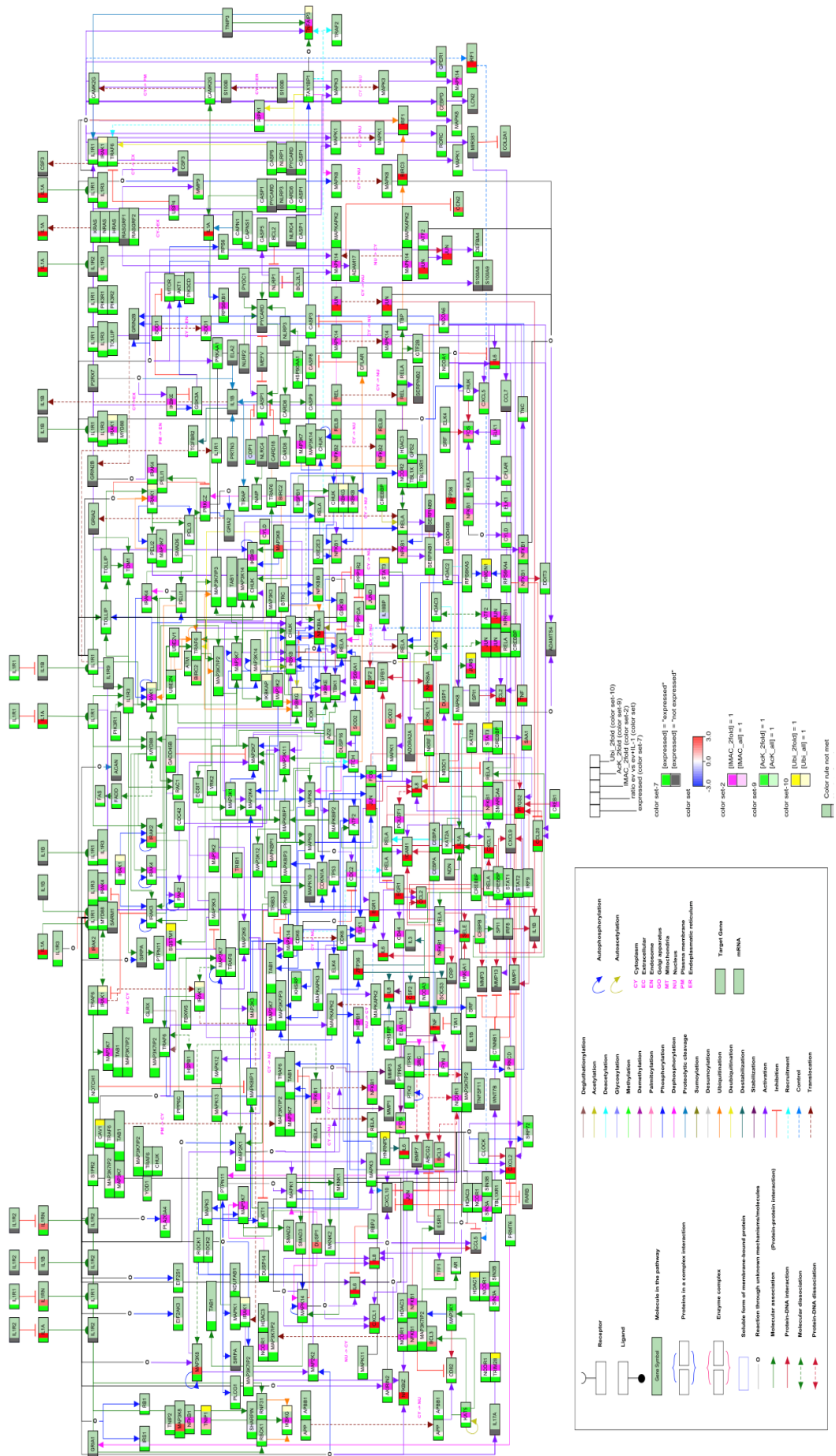


Abbildung 24: Komplette Darstellung der IL-1 Signaltransduktionskarte mit der Projektion von genomweiten Transkriptom und proteomweiten PTM Daten. Die Änderungen der mRNA Expression und der posttranslational modifizierten Moleküle wurden wie Text detailliert beschrieben durch Mikroarray Analysen bzw. LC-MS/MS Analysen bestimmt. Um die Komplexität der Darstellung nicht weiter zu erhöhen, wurden auf die Visualisierung der zeitlichen Auflösung verzichtet und alle anhand der angewandten Filterkriterien als IL-1 α regulierte PTMs definierte Veränderungen zusammengefasst.

4 DISKUSSION

4.1 Implementierung einer IL-1-Signaltransduktionskarte als Wissensarchiv

Die diversen Arbeitsstufen zur Erstellung der in dieser Dissertation beschriebenen IL-1-Signaltransduktionskarte beinhalten auf jeder einzelnen Ebene komplexe Überlegungen und Schritte, welche im Folgenden diskutiert werden. Zu Beginn dieser Dissertation wurden die Schlüsselwörter der Literaturrecherche und deren logische Verknüpfung ausgewählt. Hierdurch fand bereits vor der Suche eine Selektion möglicher Inhalte statt. Es kann daher nicht vollständig ausgeschlossen werden, dass weitere Literatur mit neuen und / oder hochwertigen Daten zu der IL-1 Signaltransduktion publiziert wurde, welche diese Suchkriterien nicht erfüllten. Allerdings wurde versucht, anhand der ausgewählten Schlüsselwörter und deren Verknüpfung diese Möglichkeit auf ein Minimum zu beschränken (vgl. Kapitel 2.2). Die folgende Suche in der Datenbank *PubMed*, die Sichtung der Ergebnisse, das Sammeln der Originaltexte und die systematische Aufarbeitung dieser Texte stellen ebenso wie die Extraktion der Daten, deren Einbettung in eine digitale Datenbank und die abschließende Implementierung und Visualisierung in die IL-1-Signaltransduktionskarte sehr zeitaufwändige und komplexe Prozesse dar. Während dieses gesamten Vorgehens wurde die Bestrebung unternommen, hochwertige Originalarbeiten mit ausreichend kontrollierten Daten aus der Gesamtliteratur herauszufiltern und somit die Qualität und Aussagekraft der IL-1 Signaltransduktionskarte trotz steigender Komplexität zu gewährleisten. Die Daten, die für die Erstellung der Karte Verwendung fanden, erstrecken sich über einen Forschungszeitraum von 1984 bis 2018. In dieser Zeit veränderten sich die technischen und wissenschaftlichen Methoden stetig. Dieser wissenschaftliche Prozess wurde durch die Ergänzung der bestehenden Einträge in der vorherigen Version der IL-1 Signaltransduktionskarte anhand neuer Erkenntnisse für den Zeitraum 2011–2018 berücksichtigt. Die Spanne der Methoden aus den Lebenswissenschaften, welche in der IL-1 Signaltransduktionskarte abgebildet sind, reicht damit von den Anfängen der molekularen Klonierung und plasmid-basierten Perturbationsstudien zu IL-1-Signalwegen bis zu Ergebnissen aus Immunoblots mit phosphorylierungsspezifischen Antikörpern, (Ko)Immunopräzipitationen von endogenen (Multi)Proteinkomplexen, Strukturanalysen, massenspektrometrischer Proteinanalytik und funktionellen Ergebnissen aus modernen *loss of function* Ansätzen mittels RNA Interferenz.

Für die Arbeiten an der vorliegenden Karte wurde versucht, die Nomenklatur der Proteine standardisiert zu verwenden, da die zum Teil sehr unterschiedliche Namensgebung der gleichen Proteine in der Literatur und in Datenbanken ein großes Problem darstellt. So gibt es für fast alle verwendeten Proteine mehrere Alias-Namen, die parallel Verwendung finden. Zum Beispiel finden sich für das Molekül *MAP3K7* in der Gendatenbank *GeneCards* elf verschiedene Alias-Namen, die bei der Recherche und Archivierung von Einträgen in der Datenbank berücksichtigt werden mussten (<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MAP3K7&keywords=MAP3K7>; Stand: 11.05.2020). Diesem Problem wurde zum einen durch die gleichzeitige Hinterlegung der numerischen *Entrez Gene* Identifikationsnummer und zum anderen durch die Verwendung des Gennamens für das entsprechende Protein versucht, zu entgegenen.

Die vorliegende Signaltransduktionskarte ist auf menschliche und murine Epithelien fokussiert. Allerdings fanden, wie aus den im Ergebnisteil detailliert dargestellten Einträgen hervorgeht, auch diverse hochwertige Informationen aus anderen Säugetierspezies oder anderen Gewebeverbänden ihren Weg in die Darstellung. Deshalb wurden in dieser Arbeit zusätzlich zu den jeweiligen Daten systematisch die verwendeten Zellen, die Spezies und die Methoden hinterlegt. So kann adäquat nachvollzogen werden, aus welchem Gewebe die einzelnen Informationen stammen. Durch die zunehmende Komplexität der Karte ist die einfache und schnelle Nachvollziehbarkeit eine wichtige Voraussetzung für deren Nutzung. Auch können je nach Gewebe intrazelluläre Signalvorgänge unterschiedlich ablaufen, was durch die angefügten Zusatzinformationen schnell validiert werden kann. Ein Beispiel für die Vielfältigkeit molekularer Regulationsmechanismen in unterschiedlichen Zelltypen und Spezies stellt das Protein MYD88 dar, welches als Teil des Myddosoms an der Rezeptor-proximalen Initiierung der IL-1 Signalkaskade in der Zelle fungiert. Die Erkenntnisse zu diesem Protein wurden in menschlichen HEK293 Zellen (Strickson et al., 2017; Vollmer et al., 2017; Muroi and Tanamoto, 2008; Rao et al., 2005; Burns et al., 2000; Burns et al., 2003; Janssens et al., 2002; Li et al., 2002b; Jiang et al., 2002; Wesche et al., 1997; Wesche et al., 1999; Medzhitov et al., 1998; Muzio et al., 1997), in menschlichen Fibroblasten (De et al., 2018; Wang et al., 2018), in menschlichen Makrophagen (Ma et al., 2004), in einem menschlichen *in vitro*-Modell (Ferraro et al., 2014), in murinen Lymphomzellen (Jefferies et al., 2001; Brikos et al., 2007), in murinen Fibroblasten (Yamamoto et al., 2004) und

zum Teil in murinen Thymuszellen erhoben (Adachi et al., 1998). Bei der vorliegenden Arbeit wurden gewonnene Erkenntnisse aus *Toll-like Rezeptor* (TLR) Signalwegen nicht berücksichtigt, obwohl die beteiligten Moleküle häufig mit denen in IL-1 Rezeptor Signalwegen übereinstimmen und dadurch in der Literatur oft nicht getrennt werden (Cohen, 2014).

Zusammenfassend konnte durch die hier dargestellte Erweiterung der IL-1 Signaltransduktionskarte eine hohe Aktualität, Qualität und Quantität erzielt werden. Die aktuelle Version der Karte enthält auf der Basis von 570 Publikationen 335 Moleküle, beschreibt 680 Reaktionen zwischen diesen Molekülen und enthält 883 Kommentare und (Literatur)Verweise. Trotzdem kann die aktuelle Karte nicht dem Anspruch auf Vollständigkeit Genüge tun.

Der Umfang dieser IL-1 Karte geht dennoch deutlich über denjenigen anderer etablierter Datenbanken hinaus. So enthält aktuell zum Beispiel die *NetPath* IL-1-Signaltransduktionskarte mit 69 Molekülen und 251 Reaktionen nur circa ein Drittel der hier gezeigten Zusammenhänge (http://netpath.org/pathways?path_id=NetPath_13; Stand 11.05.2020) (Kandasamy et al., 2010). Die aktuelle Version des Interleukin-1 Signalweges von *WikiPathways* enthält 56 Moleküle (<https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP195>; Stand 11.05.2020). Die aktuelle Version der National Cancer Institute Nature Pathway Interaction Database (https://www.nlm.nih.gov/research/umls/sourcereleasedocs/current/NCI_PID/index.html), IL1-Mediated Signaling Pathway (Code C91617)) enthält 36 Moleküle und 136 Interaktionen (Schaefer et al., 2009).

Um die Signalkarte kontinuierlich zu verbessern und zu aktualisieren sind weitere Literaturrecherchen notwendig. Seit dem Stichtag der Literaturrecherche der vorliegenden Arbeit (01.11.2018) sind auf *PubMed* weitere 4838 neue Arbeiten publiziert worden, die das Stichwort „IL-1“ im Titel und Abstract enthalten ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=\(IL-1\)%20AND%20\(%222018%2F11%2F01%22%5BDate%20-%20Publication%5D%20%3A%20%223000%22%5BDate%20-%20Publication%5D\);](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=(IL-1)%20AND%20(%222018%2F11%2F01%22%5BDate%20-%20Publication%5D%20%3A%20%223000%22%5BDate%20-%20Publication%5D);) Stand 12.05.2020). Um die Aktualisierung der IL-1-Signaltransduktionskarte zu erleichtern wäre ein *open source*-Konzept denkbar. Hierbei könnten von überall auf der Welt Wissenschaftler auf die Karte zugreifen und diese bearbeiten, z.B. im Rahmen eines

sogenanntes *data sharing*-Modells (Demir et al., 2010). Auch hier wäre die Qualitätssicherung weiterhin eine sehr große Herausforderung. In diesem Zusammenhang wäre die Einführung von internationalen Qualitätsrichtlinien für die Literaturrecherche und den angewandten Gütekriterien wünschenswert. Dadurch wäre es deutlich einfacher, die Ergebnisse der Suche zu normieren und in eine gemeinsame Karte zu implementieren, die in ihrer komplettesten Form dann die Handhabung und Integration von Daten aus unterschiedlichen Spezies und Zelltypen ermöglicht.

4.1.1 Diskussion der Kriterien der Literaturrecherche zum IL-1 Signalweg

Die Güte der Ergebnisse einer Literaturrecherche ist direkt abhängig von der Qualität der verwendeten Quellen. Es war daher zunächst wichtig, die Suchbegriffe passend auszuwählen und diese sinnvoll zu verknüpfen. Deswegen wurden verschiedene Schreibweisen von Interleukin-1 mit den Schlüsselwörtern *signaling*, *kinase*, *phosphorylation*, *protein complex* und *signal transduction* verknüpft. Diese Kombinationen mussten im Titel oder Abstract einer Publikation der Datenbank *PubMed* enthalten sein, um in die nähere Auswahl zu kommen. Daraus ergeben sich Limitationen, welche zum Beispiel Publikationen, die nicht in *PubMed* gelistet worden sind oder Publikationen, die diese logischen Verknüpfungen nicht erfüllen, nicht berücksichtigten. Es kann daher, wie bereits ausgeführt, kein Anspruch auf Vollständigkeit erhoben werden.

Bei der weiteren Selektion der gefundenen Veröffentlichungen wurde überprüft, ob die gezeigten Daten auch tatsächlich das Thema der IL-1-Signaltransduktion behandeln. Zum Beispiel konnten einige Daten trotz hoher Qualität der Datenerhebung nicht berücksichtigt werden, weil sie aus TLR Signalwegen stammen oder aus nicht Säugetier-Spezies (Papagianni et al., 2018). Es ist also denkbar, dass Erkenntnisse über IL-1-ähnliche Signalwege existieren, die bisher nur in anderen Spezies oder in TLR Signalwegen gefunden werden konnten, für Säugetierzellen oder für den IL-1 Signalweg aber lediglich noch nicht bewiesen werden konnten.

Nach dieser ersten stichwortbasierten Sammlung von Originalarbeiten erfolgte eine inhaltliche Überprüfung der Publikationen, bei der die wissenschaftlichen Methoden und Schlussfolgerungen nachvollzogen wurden. Um dies zu gewährleisten, wurden die Volltexte inklusive der *supplements* durchgearbeitet. Ergab diese Analyse zum Beispiel

nicht nachvollziehbare Schlussfolgerungen aus den berichteten Ergebnissen, so wurde diese Studie verworfen. Damit die Bewertung der Recherche möglichst verlässlich war, wurden vorher Bedingungen aufgestellt, um die klassischen Gütekriterien zu erfüllen. Es wurde versucht, Die Bewertungskriterien der Literatur möglichst objektiv, nachvollziehbar und einheitlich anzuwenden. Die Bewertung der Literatur wurde durch den Autor dieser Arbeit durchgeführt, um die statistische Störvariable *interraterreliability* zu kontrollieren. Unter dem Begriff *interraterreliability* versteht man das Ausmaß an Übereinstimmung der Einschätzungsergebnisse zwischen unterschiedlichen Beobachtern und lässt so Rückschlüsse zu, inwieweit die Ergebnisse (un)abhängig von den Beobachtern sind (Wirtz, 2002; Krippendorff, 2004).

Dieses Vorgehen bietet aber auch die Gefahr eines konstanten Bewertungsfehlers, weshalb regelmäßige Konsultationen mit den Betreuern Prof. Dr. Michael Kracht und Dr. Axel Weber zur Diskussion der Kriterien und Auswahl der Literatur durchgeführt wurden. Mindestens eine der folgenden Einschlusskriterien für die einzelnen Publikationen sollten erfüllt sein:

- IL-1-induzierte oder inhibierte posttranslationale Modifikationen von intrazellulären Proteinen. Eine beispielhafte Methode hierfür wären Immunoblots mit phosphorylierungsspezifischen Antikörpern oder Massenspektrometrie.
- IL-1-induzierte oder inhibierte Assemblierung von Multiproteinkomplexen. Beispielhafte Methoden hierfür wären hochwertige Koimmunopräzipitationen mit Nachweis der interagierenden Proteine mittels Immunoblot oder Massenspektrometrie.
- Kausale Verknüpfung von Signalketten, durch die ein distal in dem Signalweg liegender Phänotyp aktiviert oder supprimiert wird. Beispielhafte Methoden hierfür wäre *knockdown/knockout* von proximal im Signalweg gelegenen Komponenten mit nachfolgender Auslösung eines funktionellen Phänotyps (z.B. einer verminderten IL-1-abhängigen Induktion eine Gens).
- IL-1-induzierte Phänotypen, die durch Rekonstitution eines *knockdown/knockout*-Modells mit einer mutierten Variante des Proteins verändert werden. Beispielhafte Methoden hierfür wäre die Reexpression bestimmter phosphorylierungsdefizienter Varianten eines Signalproteins in einem *knockdown/knockout* Hintergrund mit nachfolgendem funktionellen Defekt.

Anhand dieses Leitfadens konnten die einzelnen Veröffentlichungen systematisch durchmustert und relevante Hauptaussagen entsprechend in die Ergebnisdatei der Literaturrecherche übernommen werden. Dieses Vorgehen war aufwändig und zeitintensiv, bot aber im Gegensatz zu einer automatisierten Stichwort-/Text-basierten Durchsuchung von Manuskripten die Möglichkeit, anhand der Originaldaten die Qualität der erhobenen Aussagen subjektiv zu überprüfen. Auf der anderen Seite ist dieses Vorgehen durch die immer größer werdende Anzahl veröffentlichter Informationen limitiert. Die Alternative wäre eine Recherche basierend auf künstlicher Intelligenz. Solche *in silico* Analysen werden in Zukunft wahrscheinlich immer wichtiger, denn sie sind schnell, automatisierbar, ressourcenschonender bezüglich der menschlichen Arbeitskraft und können deutlich größere Mengen an Informationen bearbeiten (Murakami et al., 2017; Pinero et al., 2018). Bisher können diese Algorithmen allerdings noch keine differenzierten Bewertungsfragen experimenteller Originaldaten lösen, das heißt sie können nicht ausreichend zwischen qualitativ hochwertigen und qualitativ nicht ausreichenden Originaldaten unterscheiden, z.B. bei der Bewertung von komplexen Proteinbanden Mustern, wie sie häufig bei Immunoblot Ergebnissen gefunden werden (Miller and Brown, 2018; Guo et al., 2020). Die Zukunft wird zeigen, inwiefern der schnelle Fortschritt in der Informationstechnologie und Bilderkennung über ein aktives Lernen der Programme solche differenzierten Schritte ermöglicht.

Ebenso wichtig wie eine Positivkontrolle der Gütekriterien von Studien war eine Negativkontrolle. Hierbei wurde vor der Recherche bestimmt, welche Ausschlusskriterien im Sinne von qualitativ nicht geeigneten Veröffentlichungen bestehen. Hierfür wurde festgelegt, sowohl rein korrelationsbasierte Daten als auch rein überexpressionsbasierte Daten auszuschließen, da diese entweder keinen kausalen mechanistischen Zusammenhang zwischen zwei Prozessen belegen (bei korrelativer Analyse), bzw. das Signalsystem unphysiologisch perturbieren (bei Überexpression).

Bei der anschließenden Visualisierung der Daten in der IL-1-Signaltransduktionskarte war vor allem der bereits bestehende hohe Detailgrad eine Herausforderung. Es musste in das bestehende Konzept, das räumlich bestmöglich in Zellkompartimente untergliedert war (Wasiliew, 2014), eine Vielzahl an neuen Informationen implementiert werden. Die ohnehin bereits eingeschränkte Übersichtlichkeit wurde dadurch weiter vermindert, denn auch dieses räumliche Aufteilungskonzept anhand von subzellulären Kompartimenten konnte nicht immer optimal umgesetzt werden, zum Beispiel konnten die Moleküle ITCH

und TAX1BP1 in der Signaltransduktionskarte nur in großer räumlicher Trennung sinnvoll in das Gesamtbild integriert werden. Im Gegenzug konnte dadurch aber ein weiter erhöhter Detailgrad erreicht werden. Der fehlenden optischen Übersichtlichkeit lässt sich über die Zoomfunktion und die Suchfunktion von *PathVisio* begegnen. Hier können durch Doppelklick alle bisher hinterlegten Informationen leicht abgerufen werden und durch direkte Links zu den jeweiligen Publikationen einfach verfolgt werden.

Je mehr Informationen die IL-1-Signaltransduktionskarte enthält, desto mehr kommt es auch zu „Lücken“ in der akkuraten Abbildung von schrittweisen Signalvorgängen. Dies ist dadurch bedingt, dass bei einer hohen Zahl neuer Erkenntnisse die genauen direkten oder funktionellen Interaktionen zwischen den einzelnen Molekülen oft (noch) fehlen. So zeigen Daten (Immunoblots, Inhibitionsexperimente) an menschlichen Epithelzellen, dass IL-1 β die Assoziation des Gerüstproteins (*scaffolding*-) Caveolin1 (CAV1) mit TRAF6 induziert und der weitere Signalweg über MAPK14 und MAPKAPK2 verläuft (Jagielska et al., 2012). Die genauen Interaktionen und Interaktionsdomänen zwischen den einzelnen Molekülen und mögliche weitere an dieser Signalübertragung beteiligte Moleküle sind aber noch unverstanden, genauso wie die detaillierten Interaktionen zwischen den einzelnen Aminosäureresten der interagierenden Proteine und deren dadurch bedingten Konformationsänderungen. Dieser Sachverhalt zeigt deutlich, dass neue wissenschaftliche Erkenntnisse immer auch neue Lücken in der Signalkarte offenbaren werden. So zeigt die Technik der intrazellulären *proximity*-basierten Markierung von transienten und unterschiedlich stabilen Protein:Protein Interaktionen, welche vor wenigen Jahren entwickelt wurde zunehmend (Roux, 2013; Varnaite and MacNeill, 2016), dass ein einzelnes intrazelluläres Protein hunderte von Interaktionspartnern haben kann, so dass Signalprozesse nicht als lineare Kaskaden ablaufen, sondern als miteinander verschaltete, hochkomplexe und dynamische Signalnetzwerke. So wurde z.B. für RNA-bindende Proteine, die posttranskriptional die Stabilität und den Abbau von mRNA regulieren, gezeigt, dass sie riesige Signalnetzwerke ausbilden (Youn et al., 2018). Diese posttranskriptionellen Prozesse sind auch essentiell an der Regulation IL-1-oder TNF-induzierter Gene beteiligt (Kracht and Saklatvala, 2002; Rzeckowski et al., 2011; Hao and Baltimore, 2009; Anderson, 2008; Anderson, 2009) und es kann damit vermutet werden, dass viele der in (Youn et al., 2018) berichteten Protein:Protein Interaktionen auch im IL-1 Signaling eine Rolle spielen werden.

4.1.2 Einschränkungen der IL-1-Signaltransduktionskarte

Die vielleicht größte Herausforderung für die Erstellung einer „wirklichkeitsnahen“ IL-1-Signaltransduktionskarte ist die korrekte Abbildung der zeitlichen und räumlichen Veränderungen während der IL-1 Signaltransduktion. Zum einen findet sich bei vielen Literaturstellen keine Erfassung der zeitlichen Auflösung der Molekülreaktionen, zum anderen benötigt deren korrekte Darstellung eine weitere Dimension (die der Zeit) in der bisher zweidimensionalen Karte. Es ist gut untersucht, dass die einzelnen Reaktionen entlang des IL-1 Signalweges konsekutiv ablaufen müssen, weil sie einander bedingen. Der aktive, an der Plasmamembran assoziierte IL-1 Rezeptorkomplex assembliert sich innerhalb von wenigen Minuten, während die maximale Aktivierung der zytoplasmatischen NF- κ B, JNK und p38 MAPK Signalwege nach ca. 30 Minuten erfolgt und die IL-1-induzierte Genexpression im Zellkern nachfolgend zwischen 1-3 h stattfindet (Brikos et al., 2007; Jurida et al., 2015; Weiterer et al., 2020). Daher wird in der Karte mit Hilfe der räumlichen Anordnung der Signalmoleküle und Zielgene ebenfalls versucht, eine grobe zeitliche Einteilung vorzunehmen. Beginnend mit dem Zytokin IL-1 und dessen Rezeptor, führt der Signalweg über rezeptorassoziierte Proteine weiter durch das Zytosol und letztendlich werden Transkriptionsfaktoren aktiviert, die das Ablesen einzelner Gene im Zellkern hochregulieren. Dies ist jedoch nur eine stark vereinfachte Modellvorstellung und wird dem hohen Detailgrad der Karte nur bedingt gerecht. Nach der Aktivierung des IL-1 Rezeptorkomplexes und der zytoplasmatischen Signalwege kommt es zu einer zeitlichen „Spreizung“ der Genantwort, bei der die einzelnen IL-1 Zielgene zeitlich unterschiedliche Kinetiken aufweisen (Jurida et al., 2015; Weiterer et al., 2020). Zusätzlich existieren zahllose Feedbackschleifen, die positiv (d.h. verstärkend) oder negativ (d.h. abschaltend) in die IL-1 Signaltransduktion oder auch in andere Signalwege im Sinne eines *cross-talks* eingreifen (Renner and Schmitz, 2009; Schmitz et al., 2011; Hoffmann et al., 2002). Dadurch entsteht ein hochkomplexes Netz an zeitlichen Interaktionen, welches zweidimensional kaum abgebildet werden kann. Gleiches gilt für die genaue räumliche Darstellung des Ablaufens der Signalprozesse. So finden bestimmte Reaktionen in unterschiedlichen Zellorganellen statt, welche nicht in der Übersichtskarte dargestellt werden konnten, wie zum Beispiel dem Endoplasmatischen Retikulum oder dem Golgi-Apparat. In der Literatur ist zur jeweiligen Interaktion von Signalkomponenten nicht immer das entsprechende

subzelluläre Kompartiment bekannt, ebenso laufen viele Reaktionen in mehreren Zellkompartimenten gleichzeitig ab, so findet z.B. die IL-1-induzierte phosphorylierungs- und ubiquitinierungsabhängige Degradation des I κ B α Proteins im I κ B α :p65 Protein Komplex im Zytoplasma statt, während die p65-abhängige Gentranskription in bestimmten Subkompartimenten (bzw. Chromatindomänen) des Zellkerns stattfindet. P65 kann aber schon im Zellkern nach Resynthese von I κ B α wieder stabile Heterodimere mit I κ B α ausbilden, die nachfolgend wiederum zurück ins Zytoplasma transportiert werden (Mayr-Buro et al., 2019; Kramer et al., 2014). Die kommerzielle Plattform *Ingenuity Pathway Analysis* beinhaltet multiple Visualisierungsoptionen für eine räumliche Darstellung von Signal- und Genregulationsvorgängen (Jimenez-Marin et al., 2009). Die Informationen der *Ingenuity* Datenbank wurde auch genutzt, um die räumlich- und zeitlich aufgelösten Genexpressionsvorgänge bei einer in menschlichen Probanden ausgelösten systemischen LPS-vermittelten Inflammation in Form von Signalnetzwerken darzustellen (Calvano et al., 2005). Eine verbesserte mehrdimensionale (oder auch interaktivere) Darstellung bietet daher vielfältige Möglichkeiten dynamische Signaltransduktionsvorgänge realistischer abzubilden.

Durch die große Menge an verarbeiteten Daten und unterschiedlichen Autoren der Karte sind Informationen aus unterschiedlichen Zelltypen und sogar unterschiedlichen Spezies visualisiert. Der am besten experimentell validierte Teil des IL-1 Signalnetzwerkes, der sogenannte kanonische Signalweg ist weitestgehend über alle verwendeten Spezies und Zelltypen konserviert (Weber et al., 2010a). Einzelne Sonderwege der Signalübertragung in unterschiedlichen Zellen oder Spezies können sich bisweilen allerdings deutlich unterscheiden, sind aber wie schon erwähnt, ebenfalls in der Karte dargestellt. Dieser Kompromiss wurde bewusst gewählt, um die Funktion als Datenbank und Archiv einer einheitlichen Art und Weise aufrechterhalten zu können.

Eine weitere Limitation der IL-1 Signaltransduktionskarte in ihrer gegenwärtigen Form ist die Fokussierung der Darstellung von Vorgängen, welche in einer IL-1-stimulierten, d.h. aktivierten Zelle ablaufen. Hierbei werden viele der IL-1 Signalmoleküle konstitutiv exprimiert und die Aktivierung erfolgt durch posttranslationale Modifikationen wie Phosphorylierung oder Ubiquitinierung, während die Zielgene und die davon kodierten Proteine neu gebildet werden. Dieses bedeutet zum einen, dass das Zeitgitter der Darstellung verzerrt ist, da die einzelnen Reaktionen im Signalnetzwerk zu

unterschiedlichen Zeiten ablaufen. Zum anderen bedeutet dies, dass die Zelle im inaktiven Zustand, also bei fehlender Stimulation über IL-1, unvollständig oder gar nicht dargestellt wird. Wie bei der Projektion von mRNA und Proteindaten gezeigt, lässt sich allerdings die zeitliche Dimension der Aktivierung von konstitutiv aktivierten Signalmolekülen anhand von Farbkodierungen darstellen.

Eine weitere Limitation der Signaltransduktionskarte ist die rein statische Darstellung der Reaktionen, die zwischen Molekülen ablaufen. Daher wurde für das in *Science Signaling* publizierte kanonische IL-1 Signalnetzwerk bereits eine Version der IL-1 Signalkarte erstellt, in der die Hauptreaktionen zwischen Molekülen durch sogenannte boolesche oder logische Gleichungen abgebildet werden, die den Signalfluss in einer binären Form (mit dem Status „an“ oder „aus“) darstellen und so eine dynamische mathematische Modellierung ermöglichen (Schmitz et al., 2011; Saez-Rodriguez et al., 2007). Eine noch genauere mathematische Modellierung würde durch die Erstellung von stöchiometrischen Reaktionsgleichungen möglich. Solche Netzwerke sind allerdings extrem komplex, schwierig zu erzeugen und daher in der Regel in der Anzahl an integrierbaren Signalkomponenten begrenzt (Hyduke and Palsson, 2010; Ryll et al., 2011; Oda and Kitano, 2006).

4.2 Diskussion der Projektion von „deep sequencing“ Transkriptom und Proteom Daten

Neben der Eigenschaft als visualisiertes Wissensarchiv, bietet die Projektion von Messergebnissen zu den in der IL-1 Karte enthaltenen Signalkomponenten, die Möglichkeit, die Regulations- und Aktivitätszustände der einzelnen Komponenten als Gesamtheit darzustellen. Dieses wurde anhand von experimentellen Daten im letzten Teil der Dissertation demonstriert (Abbildungen 16-23). Eine noch hypothetische, aber sehr interessante Möglichkeit besteht daher darin, Transkriptom- und Proteom / PTM Daten von aus Zellen oder Geweben von gesunden Menschen vor / nach *in vitro* Stimulation mit IL-1 zu erheben und so die normale Reaktivität des IL-1 Systems auf multiplen Ebenen zu erfassen. Anhand ausreichend großer Kohorten könnte so auch eine Standardisierung erfolgen. Anschließend könnten dieselben Messungen in erkrankten Personen erhoben werden, z.B. in Patienten/Innen mit einer chronisch entzündlichen Gelenkerkrankung. Korrelative Analysen im Vergleich zum IL-1 System von Gesunden könnten einzelne Signalkomponenten oder auch wichtige Knotenpunkte der Signaltransduktion identifizieren, die am pathologischen Phänotyp beteiligt sein könnten.

Analog könnten Veränderungen auch longitudinal unter der Therapie stattfinden und so z.B. zum verbesserten Verständnis eines Therapieversagens beitragen. Denkbar wäre in diesem Szenario, dass z.B. ein initialer erfolgreicher Kinasehemmstoff seine Wirkung verliert und in der IL-1 Signalkarte festgestellt wird, dass in den betroffenen Zellen/Geweben ein alternativer Signalweg aktiviert wird, der weiterhin zur starken Expression der proinflammatorischen IL-1 Zielgene beiträgt (schematisch visualisiert in Abb. 25). In dieser Arbeit wurde demonstriert, dass die technischen Möglichkeiten zu solchen Analysen in experimentellen Labors bereits vorhanden sind. Besonders attraktiv werden solche Untersuchungen, wenn die Proteinanalytik dieselbe Sensitivität wie die Transkriptomik erreicht hat und die Gesamtheit aller Proteine und ihrer Modifikationen schnell und quantitativ in kleinsten Mengen von Biopsiematerial erfasst werden können.

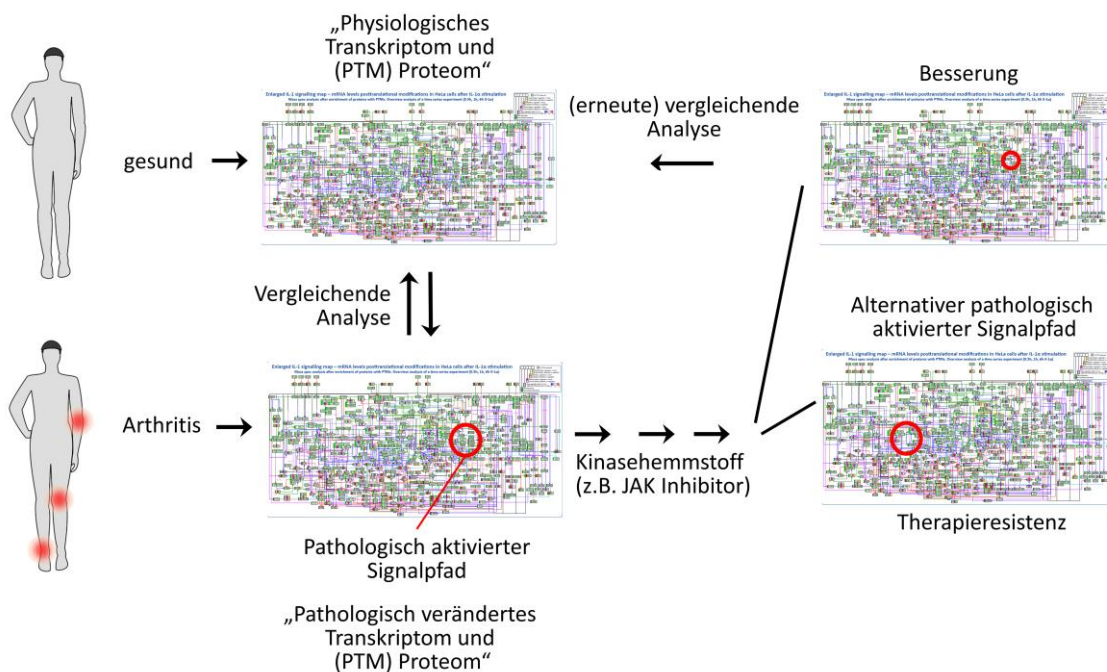


Abbildung 25: Projektion von Transkriptom-/Proteomdaten zur Erfassung von Krankheitszuständen.

4.3 Schlussfolgerung

Die hohe Informationsdichte der in dieser Dissertation weiterentwickelten IL-1-Signaltransduktionskarte reflektiert die Komplexität intrazellulärer molekularer Reaktionen während eines Entzündungsgeschehens. Langfristig wäre es erstrebenswert,

die Gesamtheit aller weltweit verfügbaren und hochwertig validierten experimentellen Daten aus der Grundlagenforschung in eine Art „Konsensus“ IL-1 Signaltransduktionskarte einzubinden. Zusammen mit der interaktiven Zugänglichkeit der Primärinformationen stünde so ein optimiertes und visualisiertes Wissensarchiv zur Verfügung, welches durch seinen modularen Aufbau jederzeit ergänzt und aktualisiert werden könnte, um neuestes Wissen nachprüfbar zu integrieren.

4.4 Bedeutung, Ausblick und Empfehlungen

Die Bedeutung der IL-1-Signaltransduktionskarte ergibt sich aus der (patho)physiologischen Rolle von IL-1. Der IL-1 Signalweg dient dem Körper im weitesten Sinne als Immunantwort auf schädigende Noxen in Form einer entzündlichen Reaktion und ist somit ein zentraler Teil der angeborenen Immunabwehr. Hyperakute und gesteigerte, dauerhafte veränderte oder chronisch rezidivierende Zustände der physiologischen Regulation des IL-1 Signalsystems werden heutzutage bereits effektiv mit globalen Inhibitoren des IL-1 Signalweges behandelt, insbesondere mit *Anakinra*, einem humanen IL-1 Rezeptorantagonist oder *Canakinumab*, einem monoklonalen Antikörper gegen IL-1 β , welche zur Therapie von inflammatorischen Autoimmunerkrankungen, wie zum Beispiel periodische Fiebersyndrome, Still Syndrom und Gichtarthritis (*Canakinumab*) (https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ilaris-epar-product-information_de.pdf; Stand 12.05.2020) sowie Cryopyrin-assoziierten Syndromen, Still Syndrom und rheumatoider Arthritis (*Anakinra*) (https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kineret-epar-product-information_de.pdf; Stand 12.05.2020) eingesetzt werden. Darüber hinaus wird eine IL-1 Blockade aktuell für viele weitere Erkrankungen und auch für den Einsatz bei *COVID-19* diskutiert. Dies zeigt beispielhaft die physiologische und klinische Relevanz des IL-1 Signalweges und lässt die gesamtgesellschaftliche Dimension der IL-1-abhängigen Erkrankungen erahnen (Huet et al., 2020).

Die in dieser Dissertation weiterentwickelte IL-1 Signaltransduktionskarte bietet innovative zukünftige Einsatzmöglichkeiten für eine individualisierte Patienten adaptierte Diagnostik und Therapie. Bereits heute ist es möglich, mRNA und Proteinproben aus kleinsten Mengen betroffener Gewebe erkrankter Patienten zu generieren (z.B. aus Gelenkbiopsien) und hochdichten Transkriptom- und (PTM)

Proteomanalysen zuzuführen. Die Daten aus solchen Messungen können, wie in dieser Dissertation gezeigt, auf die IL-1 Signaltransduktionskarte projiziert werden und könnten so *hotspots* der (Fehl)Regulation von wichtigen Schaltstellen im Signalablauf abbilden, z.B. deregulierte hyperaktivierte Proteinkinasen, für die bereits zugelassene Inhibitoren zur Verfügung stehen. Eine solche Analytik könnte im Vergleich zu einer Referenz aus gesunden Kohorten oder auch vor und im longitudinalen Verlauf einer Therapie stattfinden, um diese immer wieder anzupassen. In letzter Konsequenz würde die IL-1 Signaltransduktionskarte zusammen mit hochdichten molekularen Analysen die klassische Biomarker Diagnostik ersetzen können. Hierbei wären zusätzlich komplette *in silico* Modellierungen denkbar, die durch „virtuelle“ Eingriffe in die pathologisch veränderte Signaltransduktion am Computer die wirksamste Therapie ermitteln könnten und mögliche *non-responder* bereits vor der Therapie aufdecken könnten. Basierend auf immer effizienteren Verfahren der Informationstechnologie, könnten so alle verfügbaren Therapien am Patientenmodell der IL-1 Signaltransduktionskarte durchgerechnet werden. Hierbei könnten Therapien nach dem klinischen *trial and error*-Prinzip reduziert und gemäß der Kautele *hit hard, hit early* zielgerichtet, früh und individuell agiert werden.

Die Leistungsfähigkeit der Informationstechnologie könnte nicht nur in der Therapieplanung des Patienten eingesetzt werden, sondern sie könnte auch zur weiteren Informationsgewinnung beitragen, indem die weltweit publizierte Literatur sofort in mathematische Modellierungen und Signaltransduktionskarten umgesetzt und in Echtzeit auf dem aktuellsten Stand der Wissenschaft gehalten wird. Eine große Herausforderung wird dabei die Qualitätskontrolle der Daten sein, von der Auswahl der Methoden einzelner Studien bis hin zur Implementierung der Ergebnisse in geeignete 2D oder 3D Karten und Modelle. Dies würde intelligente und lernfähige Algorithmen voraussetzen. Die entsprechende Visualisierung der Daten könnte mehrdimensional implementiert werden, um so alle möglichen aktiven und inaktiven Zustände der Zelle und des Signalweges korrekt im Raum-Zeit-Kontinuum abzubilden.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Das Zytokin Interleukin-1 (IL-1) wirkt im Körper entzündungsfördernd, spielt eine wichtige Rolle bei Immunreaktionen und ist damit auch Teil eines sehr fein regulierten und fragilen Gleichgewichts pro-inflammatorischer und anti-inflammatorischer Regulationsmechanismen. Ist dieses pathologisch verändert, können Autoimmunerkrankungen, wie die rheumatoide Arthritis, entstehen. Vielfältige Beobachtungen weisen IL-1 als ein Schlüsselmolekül einer Reihe von chronischen, mit entzündlichen Phasen einhergehenden Krankheitsbildern aus. Mittlerweile stehen klinisch erfolgreich eingesetzte Medikamente zur Verfügung, die global die IL-1-Wirkung im Menschen supprimieren, wie zum Beispiel der IL-1 Rezeptorantagonist *Anakinra* oder der anti-IL-1 β Antikörper *Canakinumab*. Zielgerichtete Modulatoren der intrazellulären IL-1 Signaltransduktion sind allerdings noch nicht verfügbar.

In dieser Dissertation wurde das Ziel verfolgt, eine verfeinerte und globalere Darstellung der bisher bekannten IL-1-regulierten molekularen Mechanismen in Form einer IL-1 Signaltransduktionskarte zu erstellen. Diese sollte zum einen als ein interaktives und auch flexibel erweiterbares Wissensarchiv nutzbar sein und zum anderen die Projektion von hochdichten RNA und Proteindaten ermöglichen, um die Gesamtheit aller Auswirkungen von Signaltransduktionsvorgängen im IL-1 System unter homöostatischen, perturbierten oder pathologischen Bedingungen in kompakter Form abzubilden.

Hierzu wurde eine bereits vorhandene, unveröffentlichte IL-1-Signaltransduktionskarte der Arbeitsgruppe (Wasiliew, 2014) weiterentwickelt, indem im Rahmen einer systematischen Literaturrecherche hochwertige und ausreichend kontrollierte Originalarbeiten zum Thema IL-1 Signalwege für den Zeitraum zwischen dem 20.01.2010 und dem 01.11.2018 ermittelt wurden. Insgesamt wurden aus der Literatur 189 molekulare Informationen aus 67 Originalarbeiten extrahiert. Diese wurden in der Karte als 115 Molekülkommentare, 34 physikalische Interaktionen, 35 enzymatische Katalysen und 4 Transportvorgänge visualisiert. Insgesamt konnten so 79 neue Moleküle in die Karte integriert werden, so dass diese nun Informationen aus 570 Publikationen und 335 Molekülen im IL-1 System abbildet, die mittels 883 Molekülkommentaren, 398 physikalischen Interaktionen, 238 enzymatischen Katalysen und 44 Transportvorgängen untereinander und mit einer dahinter liegenden Datenbank verknüpft sind.

Im letzten Teil der Arbeit wurde gezeigt, dass experimentell ermittelte IL-1-induzierte transkriptom- und proteomweite Änderungen der mRNA und der posttranslationalen Modifikationen von Proteinen (Phosphorylierung, Ubiquitinierung, Acetylierung), erfolgreich auf die IL-1- Signaltransduktionskarte projiziert werden können.

Dieser Ansatz validiert die korrekte Zusammenstellung der IL-1 Signaltransduktionskarte und zeigt die Komplexität der ineinander verschalteten Signalvorgänge eines einzelnen proinflammatorischen Zytokins. Perspektivisch könnte eine solche IL-1 Signaltransduktionskarte verwendet werden, um unterschiedliche hochdichte molekulare Daten aus Gesunden und Erkrankten integrativ zu visualisieren und miteinander zu vergleichen. Auf dieser Basis könnten krankheitsspezifischere und individualisiertere Biomarker oder zielgerichtete Therapien entwickelt werden, deren Wirkung wiederum longitudinal im Krankheitsverlauf genom- und proteomweit abgebildet werden kann.

Schlagwörter: IL-1, Signaltransduktionskarte, Zytokine, Signalwege, Kinase, Transduktion, Proteinkomplex, Phosphorylierung

6 ABSTRACT

The cytokine interleukin-1 (IL-1) has a proinflammatory effect in the body, plays an important role in immune reactions and is thus also part of a very finely regulated and fragile balance of proinflammatory and anti-inflammatory regulatory mechanisms. If this is pathologically altered, autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis may develop. Multiple observations point to IL-1 as a key molecule in a number of chronic disease patterns associated with inflammatory phases. Clinically successful drugs are now available that globally suppress IL-1 action in humans, such as the IL-1 receptor antagonist anakinra or the anti-IL-1 β antibody canakinumab. However, targeted modulators of intracellular IL-1 signal transduction are not yet available.

In this dissertation, the goal was to create a refined and more global representation of the previously known IL-1-regulated molecular mechanisms in the form of an IL-1 signal transduction map. On the one hand, this should be usable as an interactive and also flexibly expandable knowledge archive, and on the other hand, it should allow the projection of high-density RNA and protein data to represent the totality of all effects of signal transduction processes in the IL-1 system under homeostatic, perturbed or pathological conditions in a compact form.

For this purpose, an existing unpublished IL-1 signal transduction map of the working group (Wasiliew, 2014) was further developed by identifying high-quality and adequately controlled original papers on IL-1 signaling pathways for the period between 2010-01-20 and 2018-11-01 through a systematic literature search. A total of 189 molecular information from 67 original papers were extracted from the literature. These were visualized in the map as 115 molecular annotations, 34 physical interactions, 35 enzymatic catalysts, and 4 transport events. A total of 79 new molecules were thus integrated into the map, so that it now represents information from 570 publications and 335 molecules in the IL-1 system, which are linked to each other and to an underlying database by means of 883 molecular comments, 398 physical interactions, 238 enzymatic catalysts and 44 transport processes.

In the last part of the work, experimentally determined IL-1-induced transcriptome- and proteome-wide changes in mRNA and posttranslational modifications of proteins

(phosphorylation, ubiquitination, acetylation), were shown to be successfully projected onto the IL-1 signal transduction map.

This approach validates the correct assembly of the IL-1 signal transduction map and reveals the complexity of the interconnected signaling processes of a single proinflammatory cytokine. In perspective, such an IL-1 signal transduction map could be used to integratively visualize and compare different high-density molecular data from healthy and diseased individuals. On this basis, more disease-specific and individualized biomarkers or targeted therapies could be developed, the effects of which could in turn be mapped longitudinally across the genome and proteome during disease progression.

Key words: IL-1, signaling map, cytokine, signaling pathways, kinase, transduction, protein complex, phosphorylation

7 VERZEICHNISSE

7.1 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
Abb	Abbildung
AG	Arbeitsgruppe
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrom
Arg	Arginin
Asn	Asparagin
ATP	Adenosintriphosphat
bzw.	beziehungsweise
Ca	Kalzium
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CANTOS	Canakinumab Anti-Inflammatory Thrombosis Outcomes Study
CAPS	Cryopyrin-Assoziierte Periodische Syndrome
CINCA	Chronisch infantiles neurologisch-kutanes-artikuläres Syndrom
COVID-19	Coronavirus Disease 2019
d.h.	das heißt
DIRA	Defizienz des Interleukin-1 Rezeptorantagonist
DM2	Diabetes Mellitus Typ2
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EMA	Europäische Arzneimittelagentur
FCAS	Familiäres Kälteinduziertes Autoinflammatorisches Syndrom
FMF	Familiäres Mittelmeerfieber
Glu	Glutaminsäure
G-CSF	Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
HIDS	Hyper-IgD-Syndrom
HLPC	High Performance Liquid Chromatography
ID	Identification
IL-1	Interleukin-1
IL-10	Interleukin-10
IL-17	Interleukin-17
IL-1 α	Interleukin-1 alpha
IL-1 β	Interleukin-1 beta
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
Ile	Isoleucin
IMAC	Immobilized Metal Affinity Chromatography
kDa	Kilodalton
Leu	Leucin
LPS	Lipopolysaccharide
Lys	Lysin
MAS	Makrophagen Aktivierung Syndrom
Mg	Magnesium
min	Minute
MKD	Mevalonatkinase-Defizienz
MMP	Matrix-Metalloproteasen
MWS	Muckle-Wells-Syndrom
NK Zellen	Natural Killer Zellen
NLS	Nuclear Localization Signal
NO	Stickstoffmonoxid
NOMID	Neonatal Onset Multisystem Inflammatory Disease
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PDF	Portable Document Format
PFAPA	Periodisches Fiebersyndrom
Pro	Prolin
PTM	Posttranslationale Modifikation
RA	Rheumatoide Arthritis
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
S1P	Sphingosin-1-phosphat
SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
Ser	Serin
SJIA	Systemisch juvenile idiopathische Arthritis
siRNA	Small Interfering RNA
STEMI	ST-Hebungsinfarkt
Tab	Tabelle
TGF- β	Transforming Growth Factor beta
Thr	Threonin
TLR	Toll-like Rezeptor
TRAPS	Tumor-Nekrose-Faktor-assoziiertes periodisches Syndrom
Tyr	Tyrosin
Val	Valin
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung	Titel
1	Überblick über die Funktion von IL-1 Familienmitgliedern im Immunsystem.
2	Die Bedeutung von IL-1 α als Alarmin bei einer Gewebeschädigung.
3	Die Rolle von IL-1 Familienmitgliedern bei der Tumorentwicklung.
4	Darstellung der pharmakologischen Angriffspunkte von IL-1 α/β bei entzündlichen Erkrankungen.
5	Eine schematische Darstellung des kanonischen Interleukin-1 Signaltransduktionsweges.
6	Visualisierte Übersicht des Beitrages der Autoren zu der IL-1 Signaltransduktionskarte.
7	Die Legende der IL-1 Signaltransduktionskarte in der Übersicht.
8	Beispielhafte Ansicht der hinterlegten Informationen zu den jeweiligen Molekülen.
9	Ansicht der hinterlegten Informationen über die jeweiligen Reaktionen.
10	Überblick über die komplette neueste Version der IL-1 Signaltransduktionskarte und deren räumliche Aufteilung.
11	Darstellung des Reiters „Backpage“ mit gen-zentrierten Zusatzinformationen.
12	Beispielhafte Darstellung der Implementierung von Molekülkommentaren in die IL-1 Signaltransduktionskarte.
13	Beispielhafte Darstellung der Implementierung von physikalischen Interaktionen in die IL-1 Signaltransduktionskarte.
14	Beispielhafte Darstellung der Implementierung von enzymatischen Katalysen in die IL-1-Signaltransduktionskarte.
15	Beispielhafte Darstellung der Implementierung von Transportvorgängen in die IL-1 Signaltransduktionskarte.
16	Beispielhafte Darstellung der Implementierung von widerlegten Reaktionen in die IL-1 Signaltransduktionskarte.
17	Zusammenfassung der IL-1 induzierten Transkriptionsreaktion in der humanen epithelialen Karzinomzelllinie HeLa.
18	Beispielhafte Projektion der mRNA Expressionsdaten auf die IL-1 Signaltransduktionskarte anhand des signaltransduzierenden IL-1 Rezeptorkomplexes.
19	Projektion von mRNA Änderungen wichtiger IL-1 Zielgenen auf die IL-1 Signaltransduktionskarte.
20	Komplette Darstellung der IL-1 Signaltransduktionskarte mit der Projektion von genomweiten Transkriptomdaten.
21	Übersicht über die Gesamtanzahl und die Überlappung von modifizierten Peptiden und korrespondierenden Proteinen/Genen.
22	Gemeinsame Darstellung der mRNA und PTM Regulation des signaltransduzierenden IL-1 Rezeptorkomplexes.
23	Nachweis von drei unterschiedlichen PTMs an transkriptionell aktiven Proteinen im distalen IL-1 Signaltransduktionsweg.
24	Komplette Darstellung der IL-1 Signaltransduktionskarte mit der Projektion von genomweiten Transkriptom und proteomweiten PTM Daten.
25	Projektion von Transkriptom- und Proteomdaten zur Erfassung von Krankheitszuständen.
A1	IL-1-Signaltransduktionskarte
A2	Legende der IL-1-Signaltransduktionskarte
A3	Autoren der IL-1-Signaltransduktionskarte
A4	Projektion der Trasnkriptomdaten
A5	Projektion der Proteomdaten

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle	Titel
1	Überblick über die Zytokine der Interleukin-1 Familie.
2	Übersicht über die aktuellen klinischen Studien im Bereich Interleukin-1
3	Verwandte Softwareversionen der vorliegenden Arbeit.
4	Überblick über die deskriptive Statistik der vorherigen Entwicklungsstufen bis hin zur aktuellen IL-1-Signaltransduktionskarte
5	Gesamtzahl aller modifizierten Peptide und der korrespondierenden Gen-/Proteinnamen

7.4 Literaturverzeichnis

1. Abbate,A., Salloum,F.N., Vecile,E., Das,A., Hoke,N.N., Straino,S., Biondi-Zoccai,G.G., Houser,J.E., Qureshi,I.Z., Ownby,E.D., Gustini,E., Biasucci,L.M., Severino,A., Capogrossi,M.C., Vetovec,G.W., Crea,F., Baldi,A., Kukreja,R.C., and Dobrina,A. (2008). Anakinra, a recombinant human interleukin-1 receptor antagonist, inhibits apoptosis in experimental acute myocardial infarction. *Circulation* 117, 2670-2683.
2. Abbate,A., Toldo,S., Marchetti,C., Kron,J., Van Tassell,B.W., and Dinarello,C.A. (2020a). Interleukin-1 and the Inflammasome as Therapeutic Targets in Cardiovascular Disease. *Circ. Res.* 126, 1260-1280.
3. Abbate,A., Trankle,C.R., Buckley,L.F., Lipinski,M.J., Appleton,D., Kadariya,D., Canada,J.M., Carbone,S., Roberts,C.S., Abouzaki,N., Melchior,R., Christopher,S., Turlington,J., Mueller,G., Garnett,J., Thomas,C., Markley,R., Wohlford,G.F., Puckett,L., Medina de,C.H., Chiabrando,J.G., Bressi,E., Del Buono,M.G., Schatz,A., Vo,C., Dixon,D.L., Biondi-Zoccai,G.G., Kontos,M.C., and Van Tassell,B.W. (2020b). Interleukin-1 Blockade Inhibits the Acute Inflammatory Response in Patients With ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction. *J. Am. Heart Assoc.* 9, e014941.
4. Abbate,A., Van Tassell,B.W., Seropian,I.M., Toldo,S., Robati,R., Varma,A., Salloum,F.N., Smithson,L., and Dinarello,C.A. (2010). Interleukin-1beta modulation using a genetically engineered antibody prevents adverse cardiac remodelling following acute myocardial infarction in the mouse. *Eur. J. Heart Fail.* 12, 319-322.
5. Abraham,E. and Allbee,J. (1994). Effects of therapy with interleukin-1 receptor antagonist on pulmonary cytokine expression following hemorrhage and resuscitation. *Lymphokine Cytokine Res.* 13, 343-347.
6. Acuner Ozbabacan,S.E., Gursoy,A., Nussinov,R., and Keskin,O. (2014). The structural pathway of interleukin 1 (IL-1) initiated signaling reveals mechanisms of oncogenic mutations and SNPs in inflammation and cancer. *PLoS. Comput. Biol.* 10, e1003470.
7. Adachi,O., Kawai,T., Takeda,K., Matsumoto,M., Tsutsui,H., Sakagami,M., Nakanishi,K., and Akira,S. (1998). Targeted disruption of the MyD88 gene results in loss of IL-1- and IL-18-mediated function. *Immunity.* 9, 143-150.
8. Aday,A.W. and Ridker,P.M. (2018). Antiinflammatory Therapy in Clinical Care: The CANTOS Trial and Beyond. *Front Cardiovasc. Med.* 5, 62.
9. Aksentijevich,I., Masters,S.L., Ferguson,P.J., Dancey,P., Frenkel,J., van Royen-Kerkhoff,A., Laxer,R., Tedgard,U., Cowen,E.W., Pham,T.H., Booty,M., Estes,J.D., Sandler,N.G., Plass,N., Stone,D.L., Turner,M.L., Hill,S., Butman,J.A., Schneider,R., Babyn,P., El-Shanti,H.I., Pope,E., Barron,K., Bing,X., Laurence,A., Lee,C.C., Chapelle,D., Clarke,G.I., Ohson,K., Nicholson,M., Gadina,M., Yang,B., Korman,B.D., Gregersen,P.K., van Hagen,P.M., Hak,A.E., Huizing,M., Rahman,P., Douek,D.C., Remmers,E.F., Kastner,D.L., and

- Goldbach-Mansky,R. (2009). An autoinflammatory disease with deficiency of the interleukin-1-receptor antagonist. *N. Engl. J. Med.* *360*, 2426-2437.
10. Ali,S., Singh,N.N., Yildirim,H., and Ramji,D.P. (2010). Requirement for nuclear factor kappa B signalling in the interleukin-1-induced expression of the CCAAT/enhancer binding protein-delta gene in hepatocytes. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* *42*, 113-119.
11. Altmeier,S., Toska,A., Sparber,F., Teijeira,A., Halin,C., and LeibundGut-Landmann,S. (2016). IL-1 Coordinates the Neutrophil Response to *C. albicans* in the Oral Mucosa. *PLoS. Pathog.* *12*, e1005882.
12. Alves-Filho,J.C., Sonogo,F., Souto,F.O., Freitas,A., Verri,W.A., Jr., Auxiliadora-Martins,M., Basile-Filho,A., McKenzie,A.N., Xu,D., Cunha,F.Q., and Liew,F.Y. (2010). Interleukin-33 attenuates sepsis by enhancing neutrophil influx to the site of infection. *Nat. Med.* *16*, 708-712.
13. Amarasekara,D.S., Yun,H., Kim,S., Lee,N., Kim,H., and Rho,J. (2018). Regulation of Osteoclast Differentiation by Cytokine Networks. *Immune. Netw.* *18*, e8.
14. Anderson,P. (2008). Post-transcriptional control of cytokine production. *Nat. Immunol.* *9*, 353-359.
15. Anderson,P. (2009). Intrinsic mRNA stability helps compose the inflammatory symphony. *Nat. Immunol.* *10*, 233-234.
16. Apte,R.N., Dotan,S., Elkabets,M., White,M.R., Reich,E., Carmi,Y., Song,X., Dvozkin,T., Krelin,Y., and Voronov,E. (2006). The involvement of IL-1 in tumorigenesis, tumor invasiveness, metastasis and tumor-host interactions. *Cancer Metastasis Rev.* *25*, 387-408.
17. Apte,R.N. and Voronov,E. (2017). Immunotherapeutic approaches of IL-1 neutralization in the tumor microenvironment. *J. Leukoc. Biol.* *102*, 293-306.
18. Arana-Argaez,V.E., Delgado-Rizo,V., Pizano-Martinez,O.E., Martinez-Garcia,E.A., Martin-Marquez,B.T., Munoz-Gomez,A., Petri,M.H., Armendariz-Borunda,J., Espinosa-Ramirez,G., Zuniga-Tamayo,D.A., Herrera-Esparza,R., and Vazquez-Del,M.M. (2010). Inhibitors of MAPK pathway ERK1/2 or p38 prevent the IL-1{beta}-induced up-regulation of SRP72 autoantigen in Jurkat cells. *J. Biol. Chem.* *285*, 32824-32833.
19. Aronson,I.K. and Worobec,S.M. (2010). Cytophagic histiocytic panniculitis and hemophagocytic lymphohistiocytosis: an overview. *Dermatol. Ther.* *23*, 389-402.
20. Assuma,R., Oates,T., Cochran,D., Amar,S., and Graves,D.T. (1998). IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J. Immunol.* *160*, 403-409.
21. Auron,P.E., Webb,A.C., Rosenwasser,L.J., Mucci,S.F., Rich,A., Wolff,S.M., and Dinarello,C.A. (1984). Nucleotide sequence of human monocyte interleukin 1 precursor cDNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* *81*, 7907-7911.

22. Banerjee,S. and McGee,D.W. (2016). ROCK activity affects IL-1-induced signaling possibly through MKK4 and p38 MAPK in Caco-2 cells. *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim* 52, 878-884.
23. Bauge,C., Girard,N., Leclercq,S., Galera,P., and Boumediene,K. (2012). Regulatory mechanism of transforming growth factor beta receptor type II degradation by interleukin-1 in primary chondrocytes. *Biochim. Biophys. Acta* 1823, 983-986.
24. Beausoleil,S.A., Villen,J., Gerber,S.A., Rush,J., and Gygi,S.P. (2006). A probability-based approach for high-throughput protein phosphorylation analysis and site localization. *Nat. Biotechnol.* 24, 1285-1292.
25. Behrens,E.M., Kreiger,P.A., Cherian,S., and Cron,R.Q. (2006). Interleukin 1 receptor antagonist to treat cytophagic histiocytic panniculitis with secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J. Rheumatol.* 33, 2081-2084.
26. Bellora,F., Castriconi,R., Doni,A., Cantoni,C., Moretta,L., Mantovani,A., Moretta,A., and Bottino,C. (2012). M-CSF induces the expression of a membrane-bound form of IL-18 in a subset of human monocytes differentiating in vitro toward macrophages. *Eur. J. Immunol.* 42, 1618-1626.
27. Beltrami-Moreira,M., Vromman,A., Sukhova,G.K., Folco,E.J., and Libby,P. (2016). Redundancy of IL-1 Isoform Signaling and Its Implications for Arterial Remodeling. *PLoS. One.* 11, e0152474.
28. Ben-Addi,A., Mambole-Dema,A., Brender,C., Martin,S.R., Janzen,J., Kjaer,S., Smerdon,S.J., and Ley,S.C. (2014). IkappaB kinase-induced interaction of TPL-2 kinase with 14-3-3 is essential for Toll-like receptor activation of ERK-1 and -2 MAP kinases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 111, E2394-E2403.
29. Bensen,J.T., Dawson,P.A., Mychaleckyj,J.C., and Bowden,D.W. (2001). Identification of a novel human cytokine gene in the interleukin gene cluster on chromosome 2q12-14. *J. Interferon Cytokine Res.* 21, 899-904.
30. Bent,R., Moll,L., Grabbe,S., and Bros,M. (2018). Interleukin-1 Beta-A Friend or Foe in Malignancies? *Int. J. Mol. Sci.* 19.
31. Berda-Haddad,Y., Robert,S., Salers,P., Zekraoui,L., Farnarier,C., Dinarello,C.A., Dignat-George,F., and Kaplanski,G. (2011). Sterile inflammation of endothelial cell-derived apoptotic bodies is mediated by interleukin-1alpha. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 108, 20684-20689.
32. Bettiol,A., Lopalco,G., Emmi,G., Cantarini,L., Urban,M.L., Vitale,A., Denora,N., Lopalco,A., Cutrignelli,A., Lopodota,A., Venerito,V., Fornaro,M., Vannacci,A., Rigante,D., Cimaz,R., and Iannone,F. (2019a). Unveiling the Efficacy, Safety, and Tolerability of Anti-Interleukin-1 Treatment in Monogenic and Multifactorial Autoinflammatory Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 20.
33. Bettiol,A., Silvestri,E., Di,S.G., Amedei,A., Becatti,M., Fiorillo,C., Lopalco,G., Salvarani,C., Cantarini,L., Soriano,A., and Emmi,G. (2019b). The right place of

- interleukin-1 inhibitors in the treatment of Behcet's syndrome: a systematic review. *Rheumatol. Int.* 39, 971-990.
34. Blumberg,H., Dinh,H., Trueblood,E.S., Pretorius,J., Kugler,D., Weng,N., Kanaly,S.T., Towne,J.E., Willis,C.R., Kuechle,M.K., Sims,J.E., and Peschon,J.J. (2007). Opposing activities of two novel members of the IL-1 ligand family regulate skin inflammation. *J. Exp. Med.* 204, 2603-2614.
 35. Boraschi,D., Apte,R.N., and Martin,M.U. (2019). One hits (almost) all. *Nat. Immunol.* 20, 1095-1097.
 36. Boraschi,D., Italiani,P., Weil,S., and Martin,M.U. (2018). The family of the interleukin-1 receptors. *Immunol. Rev.* 281, 197-232.
 37. Bossaller,L., Chiang,P.I., Schmidt-Lauber,C., Ganesan,S., Kaiser,W.J., Rathinam,V.A., Mocarski,E.S., Subramanian,D., Green,D.R., Silverman,N., Fitzgerald,K.A., Marshak-Rothstein,A., and Latz,E. (2012). Cutting edge: FAS (CD95) mediates noncanonical IL-1beta and IL-18 maturation via caspase-8 in an RIP3-independent manner. *J. Immunol.* 189, 5508-5512.
 38. Boutin,H., LeFeuvre,R.A., Horai,R., Asano,M., Iwakura,Y., and Rothwell,N.J. (2001). Role of IL-1alpha and IL-1beta in ischemic brain damage. *J. Neurosci.* 21, 5528-5534.
 39. Brechter,A.B. and Lerner,U.H. (2007). Bradykinin potentiates cytokine-induced prostaglandin biosynthesis in osteoblasts by enhanced expression of cyclooxygenase 2, resulting in increased RANKL expression. *Arthritis Rheum.* 56, 910-923.
 40. Bresnihan,B., Newmark,R., Robbins,S., and Genant,H.K. (2004). Effects of anakinra monotherapy on joint damage in patients with rheumatoid arthritis. Extension of a 24-week randomized, placebo-controlled trial. *J. Rheumatol.* 31, 1103-1111.
 41. Brett,P.M., Zygogianni,P., Griffiths,G.S., Tomaz,M., Parkar,M., D'Aiuto,F., and Tonetti,M. (2005). Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. *J. Dent. Res.* 84, 1149-1153.
 42. Brikos,C., Wait,R., Begum,S., O'Neill,L.A., and Saklatvala,J. (2007). Mass spectrometric analysis of the endogenous type I interleukin-1 (IL-1) receptor signaling complex formed after IL-1 binding identifies IL-1RAcP, MyD88, and IRAK-4 as the stable components. *Mol. Cell Proteomics.* 6, 1551-1559.
 43. Broz,P. and Dixit,V.M. (2016). Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nat. Rev. Immunol.* 16, 407-420.
 44. Bruck,N., Suttorp,M., Kabus,M., Heubner,G., Gahr,M., and Pessler,F. (2011). Rapid and sustained remission of systemic juvenile idiopathic arthritis-associated macrophage activation syndrome through treatment with anakinra and corticosteroids. *J. Clin. Rheumatol.* 17, 23-27.

45. Brydges,S.D., Mueller,J.L., McGeough,M.D., Pena,C.A., Misaghi,A., Gandhi,C., Putnam,C.D., Boyle,D.L., Firestein,G.S., Horner,A.A., Soroosh,P., Watford,W.T., O'Shea,J.J., Kastner,D.L., and Hoffman,H.M. (2009). Inflammasome-mediated disease animal models reveal roles for innate but not adaptive immunity. *Immunity*. 30, 875-887.
46. Bufler,P., Azam,T., Gamboni-Robertson,F., Reznikov,L.L., Kumar,S., Dinarello,C.A., and Kim,S.H. (2002). A complex of the IL-1 homologue IL-1F7b and IL-18-binding protein reduces IL-18 activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 99, 13723-13728.
47. Bulek,K., Swaidani,S., Qin,J., Lu,Y., Gulen,M.F., Herjan,T., Min,B., Kastelein,R.A., Aronica,M., Kosz-Vnenchak,M., and Li,X. (2009). The essential role of single Ig IL-1 receptor-related molecule/Toll IL-1R8 in regulation of Th2 immune response. *J. Immunol.* 182, 2601-2609.
48. Bulua,A.C., Simon,A., Maddipati,R., Pelletier,M., Park,H., Kim,K.Y., Sack,M.N., Kastner,D.L., and Siegel,R.M. (2011). Mitochondrial reactive oxygen species promote production of proinflammatory cytokines and are elevated in TNFR1-associated periodic syndrome (TRAPS). *J. Exp. Med.* 208, 519-533.
49. Burns,K., Clatworthy,J., Martin,L., Martinon,F., Plumpton,C., Maschera,B., Lewis,A., Ray,K., Tschopp,J., and Volpe,F. (2000). Tollip, a new component of the IL-1RI pathway, links IRAK to the IL-1 receptor. *Nat. Cell Biol.* 2, 346-351.
50. Burns,K., Janssens,S., Brissoni,B., Olivos,N., Beyaert,R., and Tschopp,J. (2003). Inhibition of interleukin 1 receptor/Toll-like receptor signaling through the alternatively spliced, short form of MyD88 is due to its failure to recruit IRAK-4. *J. Exp. Med.* 197, 263-268.
51. Busfield,S.J., Comrack,C.A., Yu,G., Chickering,T.W., Smutko,J.S., Zhou,H., Leiby,K.R., Holmgren,L.M., Gearing,D.P., and Pan,Y. (2000). Identification and gene organization of three novel members of the IL-1 family on human chromosome 2. *Genomics* 66, 213-216.
52. Calkins,C.M., Bensard,D.D., Shames,B.D., Pulido,E.J., Abraham,E., Fernandez,N., Meng,X., Dinarello,C.A., and McIntyre,R.C., Jr. (2002). IL-1 regulates in vivo C-X-C chemokine induction and neutrophil sequestration following endotoxemia. *J. Endotoxin. Res.* 8, 59-67.
53. Calvano,S.E., Xiao,W., Richards,D.R., Felciano,R.M., Baker,H.V., Cho,R.J., Chen,R.O., Brownstein,B.H., Cobb,J.P., Tschoeke,S.K., Miller-Graziano,C., Moldawer,L.L., Mindrinos,M.N., Davis,R.W., Tompkins,R.G., and Lowry,S.F. (2005). A network-based analysis of systemic inflammation in humans. *Nature* 437, 1032-1037.
54. Cao,Z., Henzel,W.J., and Gao,X. (1996a). IRAK: a kinase associated with the interleukin-1 receptor. *Science* 271, 1128-1131.
55. Cao,Z., Xiong,J., Takeuchi,M., Kurama,T., and Goeddel,D.V. (1996b). TRAF6 is a signal transducer for interleukin-1. *Nature* 383, 443-446.

56. Carmi,Y., Dotan,S., Rider,P., Kaplanov,I., White,M.R., Baron,R., Abutbul,S., Huszar,M., Dinarello,C.A., Apte,R.N., and Voronov,E. (2013). The role of IL-1beta in the early tumor cell-induced angiogenic response. *J. Immunol.* *190*, 3500-3509.
57. Cavalli,G., De,L.G., Campochiaro,C., Della-Torre,E., Ripa,M., Canetti,D., Oltolini,C., Castiglioni,B., Tassan,D.C., Boffini,N., Tomelleri,A., Farina,N., Ruggeri,A., Rovere-Querini,P., Di,L.G., Martinenghi,S., Scotti,R., Tresoldi,M., Ciceri,F., Landoni,G., Zangrillo,A., Scarpellini,P., and Dagna,L. (2020). Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: a retrospective cohort study. *Lancet Rheumatol.* *2*, e325-e331.
58. Cavalli,G. and Dinarello,C.A. (2018). Anakinra Therapy for Non-cancer Inflammatory Diseases. *Front Pharmacol.* *9*, 1157.
59. Cayrol,C. and Girard,J.P. (2009). The IL-1-like cytokine IL-33 is inactivated after maturation by caspase-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* *106*, 9021-9026.
60. Chae,J.J., Aksentijevich,I., and Kastner,D.L. (2009). Advances in the understanding of familial Mediterranean fever and possibilities for targeted therapy. *Br. J. Haematol.* *146*, 467-478.
61. Chantzoura,E., Prinarakis,E., Panagopoulos,D., Mosialos,G., and Spyrou,G. (2010). Glutaredoxin-1 regulates TRAF6 activation and the IL-1 receptor/TLR4 signalling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *403*, 335-339.
62. Chen,C.J., Kono,H., Golenbock,D., Reed,G., Akira,S., and Rock,K.L. (2007). Identification of a key pathway required for the sterile inflammatory response triggered by dying cells. *Nat. Med.* *13*, 851-856.
63. Chen,K., Bao,Z., Tang,P., Gong,W., Yoshimura,T., and Wang,J.M. (2018). Chemokines in homeostasis and diseases. *Cell Mol. Immunol.* *15*, 324-334.
64. Cheng,H., Addona,T., Keshishian,H., Dahlstrand,E., Lu,C., Dorsch,M., Li,Z., Wang,A., Ocain,T.D., Li,P., Parsons,T.F., Jaffee,B., and Xu,Y. (2007). Regulation of IRAK-4 kinase activity via autophosphorylation within its activation loop. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *352*, 609-616.
65. Choi,Y.A., Lee,D.J., Lim,H.K., Jeong,J.H., Sonn,J.K., Kang,S.S., and Baek,S.H. (2004). Interleukin-1beta stimulates matrix metalloproteinase-2 expression via a prostaglandin E2-dependent mechanism in human chondrocytes. *Exp. Mol. Med.* *36*, 226-232.
66. Clark,A.K., Staniland,A.A., Marchand,F., Kaan,T.K., McMahon,S.B., and Malcangio,M. (2010). P2X7-dependent release of interleukin-1beta and nociception in the spinal cord following lipopolysaccharide. *J. Neurosci.* *30*, 573-582.
67. Clark,K., Peggie,M., Plater,L., Sorcek,R.J., Young,E.R., Madwed,J.B., Hough,J., McIver,E.G., and Cohen,P. (2011). Novel cross-talk within the IKK family controls innate immunity. *Biochem. J.* *434*, 93-104.

68. Cohen,I., Rider,P., Carmi,Y., Braiman,A., Dotan,S., White,M.R., Voronov,E., Martin,M.U., Dinarello,C.A., and Apte,R.N. (2010). Differential release of chromatin-bound IL-1 α discriminates between necrotic and apoptotic cell death by the ability to induce sterile inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 107, 2574-2579.
69. Cohen,P. (2014). The TLR and IL-1 signalling network at a glance. *J. Cell Sci.* 127, 2383-2390.
70. Colina,M., Pizzirani,C., Khodeir,M., Falzoni,S., Bruschi,M., Trotta,F., and Di,V.F. (2010). Dysregulation of P2X7 receptor-inflammasome axis in SAPHO syndrome: successful treatment with anakinra. *Rheumatology. (Oxford)* 49, 1416-1418.
71. Colotta,F., Re,F., Muzio,M., Bertini,R., Polentarutti,N., Sironi,M., Giri,J.G., Dower,S.K., Sims,J.E., and Mantovani,A. (1993). Interleukin-1 type II receptor: a decoy target for IL-1 that is regulated by IL-4. *Science* 261, 472-475.
72. Conde,J., Lazzaro,V., Scotece,M., Abella,V., Villar,R., Lopez,V., Gonzalez-Gay,M.A., Pino,J., Gomez,R., Mera,A., and Gualillo,O. (2017). Corticoids synergize with IL-1 in the induction of LCN2. *Osteoarthritis. Cartilage.* 25, 1172-1178.
73. Croker,B.A., Lewis,R.S., Babon,J.J., Minter,J.D., Jenne,D.E., Metcalf,D., Zhang,J.G., Cengia,L.H., O'Donnell,J.A., and Roberts,A.W. (2011). Neutrophils require SHP1 to regulate IL-1 β production and prevent inflammatory skin disease. *J. Immunol.* 186, 1131-1139.
74. Crossman,D. and Rothman,A.M.K. (2018). Interleukin-1 β inhibition with canakinumab and reducing lung cancer-subset analysis of the canakinumab anti-inflammatory thrombosis outcome study trial (CANTOS). *J. Thorac. Dis.* 10, S3084-S3087.
75. Crown,J., Jakubowski,A., Kemeny,N., Gordon,M., Gasparetto,C., Wong,G., Sheridan,C., Toner,G., Meisenberg,B., Botet,J., and . (1991). A phase I trial of recombinant human interleukin-1 β alone and in combination with myelosuppressive doses of 5-fluorouracil in patients with gastrointestinal cancer. *Blood* 78, 1420-1427.
76. Cudrici,C., Deutch,N., and Aksentijevich,I. (2020). Revisiting TNF Receptor-Associated Periodic Syndrome (TRAPS): Current Perspectives. *Int. J. Mol. Sci.* 21.
77. Cunnane,G., Madigan,A., Murphy,E., FitzGerald,O., and Bresnihan,B. (2001). The effects of treatment with interleukin-1 receptor antagonist on the inflamed synovial membrane in rheumatoid arthritis. *Rheumatology. (Oxford)* 40, 62-69.
78. Cushing,L., Stochaj,W., Siegel,M., Czerwinski,R., Dower,K., Wright,Q., Hirschfield,M., Casanova,J.L., Picard,C., Puel,A., Lin,L.L., and Rao,V.R. (2014). Interleukin 1/Toll-like receptor-induced autophosphorylation activates interleukin 1 receptor-associated kinase 4 and controls cytokine induction in a cell type-specific manner. *J. Biol. Chem.* 289, 10865-10875.

79. de Koning,H.D., Bodar,E.J., Simon,A., van der Hilst,J.C., Netea,M.G., and van der Meer,J.W. (2006). Beneficial response to anakinra and thalidomide in Schnitzler's syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* 65, 542-544.
80. de Koning,H.D., Bodar,E.J., van der Meer,J.W., and Simon,A. (2007). Schnitzler syndrome: beyond the case reports: review and follow-up of 94 patients with an emphasis on prognosis and treatment. *Semin. Arthritis Rheum.* 37, 137-148.
81. de Koning,H.D., Schalkwijk,J., van der Meer,J.W., and Simon,A. (2011). Successful canakinumab treatment identifies IL-1beta as a pivotal mediator in Schnitzler syndrome. *J. Allergy Clin. Immunol.* 128, 1352-1354.
82. De,S., Karim,F., Kiessu,E., Cushing,L., Lin,L.L., Ghandil,P., Hoarau,C., Casanova,J.L., Puel,A., and Rao,V.R. (2018). Mechanism of dysfunction of human variants of the IRAK4 kinase and a role for its kinase activity in interleukin-1 receptor signaling. *J. Biol. Chem.* 293, 15208-15220.
83. Dehghan,A., Dupuis,J., Barbalic,M., Bis,J.C., Eiriksdottir,G., Lu,C., Pellikka,N., Wallaschofski,H., Kettunen,J., Henneman,P., Baumert,J., Strachan,D.P., Fuchsberger,C., Vitart,V., Wilson,J.F., Pare,G., Naitza,S., Rudock,M.E., Surakka,I., de Geus,E.J., Alizadeh,B.Z., Guralnik,J., Shuldiner,A., Tanaka,T., Zee,R.Y., Schnabel,R.B., Nambi,V., Kavousi,M., Ripatti,S., Nauck,M., Smith,N.L., Smith,A.V., Sundvall,J., Scheet,P., Liu,Y., Ruukonen,A., Rose,L.M., Larson,M.G., Hoogeveen,R.C., Freimer,N.B., Teumer,A., Tracy,R.P., Launer,L.J., Buring,J.E., Yamamoto,J.F., Folsom,A.R., Sijbrands,E.J., Pankow,J., Elliott,P., Keaney,J.F., Sun,W., Sarin,A.P., Fontes,J.D., Badola,S., Astor,B.C., Hofman,A., Pouta,A., Werdan,K., Greiser,K.H., Kuss,O., Meyer zu Schwabedissen,H.E., Thiery,J., Jamshidi,Y., Nolte,I.M., Soranzo,N., Spector,T.D., Volzke,H., Parker,A.N., Aspelund,T., Bates,D., Young,L., Tsui,K., Siscovick,D.S., Guo,X., Rotter,J.I., Uda,M., Schlessinger,D., Rudan,I., Hicks,A.A., Penninx,B.W., Thorand,B., Gieger,C., Coresh,J., Willemssen,G., Harris,T.B., Uitterlinden,A.G., Jarvelin,M.R., Rice,K., Radke,D., Salomaa,V., Willems van,D.K., Boerwinkle,E., Vasan,R.S., Ferrucci,L., Gibson,Q.D., Bandinelli,S., Snieder,H., Boomsma,D.I., Xiao,X., Campbell,H., Hayward,C., Pramstaller,P.P., van Duijn,C.M., Peltonen,L., Psaty,B.M., Gudnason,V., Ridker,P.M., Homuth,G., Koenig,W., Ballantyne,C.M., Witteman,J.C., Benjamin,E.J., Perola,M., and Chasman,D.I. (2011). Meta-analysis of genome-wide association studies in >80 000 subjects identifies multiple loci for C-reactive protein levels. *Circulation* 123, 731-738.
84. Delima,A.J., Oates,T., Assuma,R., Schwartz,Z., Cochran,D., Amar,S., and Graves,D.T. (2001). Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 28, 233-240.
85. Delvecchio,M., Gaucher,J., Aguilar-Gurrieri,C., Ortega,E., and Panne,D. (2013). Structure of the p300 catalytic core and implications for chromatin targeting and HAT regulation. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 20, 1040-1046.
86. Demir,E., Cary,M.P., Paley,S., Fukuda,K., Lemer,C., Vastrik,I., Wu,G., D'Eustachio,P., Schaefer,C., Luciano,J., Schacherer,F., Martinez-Flores,I., Hu,Z.,

- Jimenez-Jacinto,V., Joshi-Tope,G., Kandasamy,K., Lopez-Fuentes,A.C., Mi,H., Pichler,E., Rodchenkov,I., Splendiani,A., Tkachev,S., Zucker,J., Gopinath,G., Rajasimha,H., Ramakrishnan,R., Shah,I., Syed,M., Anwar,N., Babur,O., Blinov,M., Brauner,E., Corwin,D., Donaldson,S., Gibbons,F., Goldberg,R., Hornbeck,P., Luna,A., Murray-Rust,P., Neumann,E., Ruebenacker,O., Samwald,M., van,I.M., Wimalaratne,S., Allen,K., Braun,B., Whirl-Carrillo,M., Cheung,K.H., Dahlquist,K., Finney,A., Gillespie,M., Glass,E., Gong,L., Haw,R., Honig,M., Hubaut,O., Kane,D., Krupa,S., Kutmon,M., Leonard,J., Marks,D., Merberg,D., Petri,V., Pico,A., Ravenscroft,D., Ren,L., Shah,N., Sunshine,M., Tang,R., Whaley,R., Letovksy,S., Buetow,K.H., Rzhetsky,A., Schachter,V., Sobral,B.S., Dogrusoz,U., McWeeney,S., Aladjem,M., Birney,E., Collado-Vides,J., Goto,S., Hucka,M., Le,N.N., Maltsev,N., Pandey,A., Thomas,P., Wingender,E., Karp,P.D., Sander,C., and Bader,G.D. (2010). The BioPAX community standard for pathway data sharing. *Nat. Biotechnol.* 28, 935-942.
87. Dewhirst,F.E., Stashenko,P.P., Mole,J.E., and Tsurumachi,T. (1985). Purification and partial sequence of human osteoclast-activating factor: identity with interleukin 1 beta. *J. Immunol.* 135, 2562-2568.
 88. Di Paolo,N.C. and Shayakhmetov,D.M. (2016). Interleukin 1alpha and the inflammatory process. *Nat. Immunol.* 17, 906-913.
 89. Dinarello,C.A. (1996). Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 87, 2095-2147.
 90. Dinarello,C.A. (2002). The IL-1 family and inflammatory diseases. *Clin. Exp. Rheumatol.* 20, S1-13.
 91. Dinarello,C.A. (2005a). Interleukin-1beta. *Crit Care Med.* 33, S460-S462.
 92. Dinarello,C.A. (2005b). The many worlds of reducing interleukin-1. *Arthritis Rheum.* 52, 1960-1967.
 93. Dinarello,C.A. (2006). Interleukin 1 and interleukin 18 as mediators of inflammation and the aging process. *Am. J. Clin. Nutr.* 83, 447S-455S.
 94. Dinarello,C.A. (2007). Historical insights into cytokines. *Eur. J. Immunol.* 37 *Suppl 1*, S34-S45.
 95. Dinarello,C.A. (2009a). Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu. Rev. Immunol.* 27, 519-550.
 96. Dinarello,C.A. (2009b). Interleukin-1beta and the autoinflammatory diseases. *N. Engl. J. Med.* 360, 2467-2470.
 97. Dinarello,C.A. (2009c). Targeting the pathogenic role of interleukin 1{beta} in the progression of smoldering/indolent myeloma to active disease. *Mayo Clin. Proc.* 84, 105-107.
 98. Dinarello,C.A. (2010). IL-1: discoveries, controversies and future directions. *Eur. J. Immunol.* 40, 599-606.

99. Dinarello,C.A. (2011a). A clinical perspective of IL-1beta as the gatekeeper of inflammation. *Eur. J. Immunol.* *41*, 1203-1217.
100. Dinarello,C.A. (2011b). Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood* *117*, 3720-3732.
101. Dinarello,C.A. (2012). Keep up the heat on IL-1. *Blood* *120*, 2538-2539.
102. Dinarello,C.A. (2019). The IL-1 family of cytokines and receptors in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* *15*, 612-632.
103. Dinarello,C.A., Simon,A., and van der Meer,J.W. (2012). Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* *11*, 633-652.
104. Donath,M.Y. and Shoelson,S.E. (2011). Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat. Rev. Immunol.* *11*, 98-107.
105. Doyle,S.L., Campbell,M., Ozaki,E., Salomon,R.G., Mori,A., Kenna,P.F., Farrar,G.J., Kiang,A.S., Humphries,M.M., Lavelle,E.C., O'Neill,L.A., Hollyfield,J.G., and Humphries,P. (2012). NLRP3 has a protective role in age-related macular degeneration through the induction of IL-18 by drusen components. *Nat. Med.* *18*, 791-798.
106. Drenth,J.P., van der Meer,J.W., and Kushner,I. (1996). Unstimulated peripheral blood mononuclear cells from patients with the hyper-IgD syndrome produce cytokines capable of potent induction of C-reactive protein and serum amyloid A in Hep3B cells. *J. Immunol.* *157*, 400-404.
107. Dunn,E., Sims,J.E., Nicklin,M.J., and O'Neill,L.A. (2001). Annotating genes with potential roles in the immune system: six new members of the IL-1 family. *Trends Immunol.* *22*, 533-536.
108. Durand,M., Troyanov,Y., Laflamme,P., and Gregoire,G. (2010). Macrophage activation syndrome treated with anakinra. *J. Rheumatol.* *37*, 879-880.
109. Ebrahimi,F., Urwyler,S.A., Schuetz,P., Mueller,B., Bernasconi,L., Neyer,P., Donath,M.Y., and Christ-Crain,M. (2019). Effects of interleukin-1 antagonism on cortisol levels in individuals with obesity: a randomized clinical trial. *Endocr. Connect.* *8*, 701-708.
110. Ebrahimi,F., Urwyler,S.A., Straumann,S., Doerpfeld,S., Bernasconi,L., Neyer,P., Schuetz,P., Mueller,B., Donath,M.Y., and Christ-Crain,M. (2018). IL-1 Antagonism in Men With Metabolic Syndrome and Low Testosterone: A Randomized Clinical Trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab* *103*, 3466-3476.
111. Elzinga,B.M., Twomey,C., Powell,J.C., Harte,F., and McCarthy,J.V. (2009). Interleukin-1 receptor type 1 is a substrate for gamma-secretase-dependent regulated intramembrane proteolysis. *J. Biol. Chem.* *284*, 1394-1409.
112. Emmerich,C.H., Ordureau,A., Strickson,S., Arthur,J.S., Pedrioli,P.G., Komander,D., and Cohen,P. (2013). Activation of the canonical IKK complex by

- K63/M1-linked hybrid ubiquitin chains. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* *110*, 15247-15252.
113. Eng,J.K., McCormack,A.L., and Yates,J.R. (1994). An approach to correlate tandem mass spectral data of peptides with amino acid sequences in a protein database. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* *5*, 976-989.
 114. Ershaid,N., Sharon,Y., Doron,H., Raz,Y., Shani,O., Cohen,N., Monteran,L., Leider-Trejo,L., Ben-Shmuel,A., Yassin,M., Gerlic,M., Ben-Baruch,A., Pasmanik-Chor,M., Apte,R., and Erez,N. (2019). NLRP3 inflammasome in fibroblasts links tissue damage with inflammation in breast cancer progression and metastasis. *Nat. Commun.* *10*, 4375.
 115. Espinassous,Q., Garcia-de-Paco,E., Garcia-Verdugo,I., Synguelakis,M., von,A.S., Sallenave,J.M., McKenzie,A.N., and Kanellopoulos,J. (2009). IL-33 enhances lipopolysaccharide-induced inflammatory cytokine production from mouse macrophages by regulating lipopolysaccharide receptor complex. *J. Immunol.* *183*, 1446-1455.
 116. Everett,B.M., Cornel,J.H., Lainscak,M., Anker,S.D., Abbate,A., Thuren,T., Libby,P., Glynn,R.J., and Ridker,P.M. (2019). Anti-Inflammatory Therapy With Canakinumab for the Prevention of Hospitalization for Heart Failure. *Circulation* *139*, 1289-1299.
 117. Everett,B.M., Donath,M.Y., Pradhan,A.D., Thuren,T., Pais,P., Nicolau,J.C., Glynn,R.J., Libby,P., and Ridker,P.M. (2018). Anti-Inflammatory Therapy With Canakinumab for the Prevention and Management of Diabetes. *J. Am. Coll. Cardiol.* *71*, 2392-2401.
 118. Fernandez-Ruiz,I. (2020). The IL-1 trap rilonacept resolves and prevents recurrent pericarditis. *Nat. Rev. Cardiol.*
 119. Ferrao,R., Zhou,H., Shan,Y., Liu,Q., Li,Q., Shaw,D.E., Li,X., and Wu,H. (2014). IRAK4 dimerization and trans-autophosphorylation are induced by Myddosome assembly. *Mol. Cell* *55*, 891-903.
 120. Fock,V., Mairhofer,M., Otti,G.R., Hiden,U., Spittler,A., Zeisler,H., Fiala,C., Knofler,M., and Pollheimer,J. (2013). Macrophage-derived IL-33 is a critical factor for placental growth. *J. Immunol.* *191*, 3734-3743.
 121. Freigang,S., Ampenberger,F., Weiss,A., Kanneganti,T.D., Iwakura,Y., Hersberger,M., and Kopf,M. (2013). Fatty acid-induced mitochondrial uncoupling elicits inflammasome-independent IL-1alpha and sterile vascular inflammation in atherosclerosis. *Nat. Immunol.* *14*, 1045-1053.
 122. Gabay,C., Lamacchia,C., and Palmer,G. (2010). IL-1 pathways in inflammation and human diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* *6*, 232-241.
 123. Galbraith,G.M., Hendley,T.M., Sanders,J.J., Palesch,Y., and Pandey,J.P. (1999). Polymorphic cytokine genotypes as markers of disease severity in adult periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* *26*, 705-709.

124. Gamonal,J., Acevedo,A., Bascones,A., Jorge,O., and Silva,A. (2000). Levels of interleukin-1 beta, -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. *J. Periodontol.* 71, 1535-1545.
125. Garlanda,C., Dinarello,C.A., and Mantovani,A. (2013). The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity.* 39, 1003-1018.
126. Gaspersic,R., Stiblar-Martincic,D., Osredkar,J., and Skaleric,U. (2003). Influence of subcutaneous administration of recombinant TNF-alpha on ligature-induced periodontitis in rats. *J. Periodontal Res.* 38, 198-203.
127. Gattorno,M., Piccini,A., Lasiglie,D., Tassi,S., Brisca,G., Carta,S., Delfino,L., Ferlito,F., Pelagatti,M.A., Caroli,F., Buoncompagni,A., Viola,S., Loy,A., Sironi,M., Vecchi,A., Ravelli,A., Martini,A., and Rubartelli,A. (2008). The pattern of response to anti-interleukin-1 treatment distinguishes two subsets of patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum.* 58, 1505-1515.
128. Gattorno,M., Tassi,S., Carta,S., Delfino,L., Ferlito,F., Pelagatti,M.A., D'Osualdo,A., Buoncompagni,A., Alpigiani,M.G., Alessio,M., Martini,A., and Rubartelli,A. (2007). Pattern of interleukin-1beta secretion in response to lipopolysaccharide and ATP before and after interleukin-1 blockade in patients with CIAS1 mutations. *Arthritis Rheum.* 56, 3138-3148.
129. Gelfo,V., Romaniello,D., Mazzeschi,M., Sgarzi,M., Grilli,G., Morselli,A., Manzan,B., Rihawi,K., and Lauriola,M. (2020). Roles of IL-1 in Cancer: From Tumor Progression to Resistance to Targeted Therapies. *Int. J. Mol. Sci.* 21.
130. Goh,E.T., Arthur,J.S., Cheung,P.C., Akira,S., Toth,R., and Cohen,P. (2012). Identification of the protein kinases that activate the E3 ubiquitin ligase Pellino 1 in the innate immune system. *Biochem. J.* 441, 339-346.
131. Goldbach-Mansky,R. (2011). Current status of understanding the pathogenesis and management of patients with NOMID/CINCA. *Curr. Rheumatol. Rep.* 13, 123-131.
132. Goldbach-Mansky,R., Dailey,N.J., Canna,S.W., Gelabert,A., Jones,J., Rubin,B.I., Kim,H.J., Brewer,C., Zalewski,C., Wiggs,E., Hill,S., Turner,M.L., Karp,B.I., Aksentijevich,I., Pucino,F., Penzak,S.R., Haverkamp,M.H., Stein,L., Adams,B.S., Moore,T.L., Fuhlbrigge,R.C., Shaham,B., Jarvis,J.N., O'Neil,K., Vehe,R.K., Beitz,L.O., Gardner,G., Hannan,W.P., Warren,R.W., Horn,W., Cole,J.L., Paul,S.M., Hawkins,P.N., Pham,T.H., Snyder,C., Wesley,R.A., Hoffmann,S.C., Holland,S.M., Butman,J.A., and Kastner,D.L. (2006). Neonatal-onset multisystem inflammatory disease responsive to interleukin-1beta inhibition. *N. Engl. J. Med.* 355, 581-592.
133. Gosavi,S., Chavez,L.L., Jennings,P.A., and Onuchic,J.N. (2006). Topological frustration and the folding of interleukin-1 beta. *J. Mol. Biol.* 357, 986-996.
134. Graves,D.T. and Cochran,D. (2003). The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J. Periodontol.* 74, 391-401.

135. Graves,D.T., Delima,A.J., Assuma,R., Amar,S., Oates,T., and Cochran,D. (1998). Interleukin-1 and tumor necrosis factor antagonists inhibit the progression of inflammatory cell infiltration toward alveolar bone in experimental periodontitis. *J. Periodontol.* 69, 1419-1425.
136. Gresnigt,M.S. and van de Veerdonk,F.L. (2013). Biology of IL-36 cytokines and their role in disease. *Semin. Immunol.* 25, 458-465.
137. Grimsby,S., Jaensson,H., Dubrovskaja,A., Lomnytska,M., Hellman,U., and Souchelnytskyi,S. (2004). Proteomics-based identification of proteins interacting with Smad3: SREBP-2 forms a complex with Smad3 and inhibits its transcriptional activity. *FEBS Lett.* 577, 93-100.
138. Groeger,S. and Meyle,J. (2019). Oral Mucosal Epithelial Cells. *Front Immunol.* 10, 208.
139. Gul,A., Tugal-Tutkun,I., Dinarello,C.A., Reznikov,L., Esen,B.A., Mirza,A., Scannon,P., and Solinger,A. (2012). Interleukin-1beta-regulating antibody XOMA 052 (gevokizumab) in the treatment of acute exacerbations of resistant uveitis of Behcet's disease: an open-label pilot study. *Ann. Rheum. Dis.* 71, 563-566.
140. Gulen,M.F., Bulek,K., Xiao,H., Yu,M., Gao,J., Sun,L., Beurel,E., Kaidanovich-Beilin,O., Fox,P.L., DiCorleto,P.E., Wang,J.A., Qin,J., Wald,D.N., Woodgett,J.R., Jope,R.S., Carman,J., Dongre,A., and Li,X. (2012). Inactivation of the enzyme GSK3alpha by the kinase IKKi promotes AKT-mTOR signaling pathway that mediates interleukin-1-induced Th17 cell maintenance. *Immunity.* 37, 800-812.
141. Gunther,S., Deredge,D., Bowers,A.L., Luchini,A., Bonsor,D.A., Beadenkopf,R., Liotta,L., Wintrobe,P.L., and Sundberg,E.J. (2017). IL-1 Family Cytokines Use Distinct Molecular Mechanisms to Signal through Their Shared Co-receptor. *Immunity.* 47, 510-523.
142. Guo,Y., Hao,Z., Zhao,S., Gong,J., and Yang,F. (2020). Artificial Intelligence in Health Care: Bibliometric Analysis. *J. Med. Internet. Res.* 22, e18228.
143. Ha,H., Debnath,B., and Neamati,N. (2017). Role of the CXCL8-CXCR1/2 Axis in Cancer and Inflammatory Diseases. *Theranostics.* 7, 1543-1588.
144. Hall,K.C. and Blobel,C.P. (2012). Interleukin-1 stimulates ADAM17 through a mechanism independent of its cytoplasmic domain or phosphorylation at threonine 735. *PLoS. One.* 7, e31600.
145. Han,Y., Mora,J., Huard,A., da,S.P., Wiechmann,S., Putyrski,M., Schuster,C., Elwakeel,E., Lang,G., Scholz,A., Scholz,T., Schmid,T., de,B.N., Billuart,P., Sala,C., Burkhardt,H., Parnham,M.J., Ernst,A., Brune,B., and Weigert,A. (2019). IL-38 Ameliorates Skin Inflammation and Limits IL-17 Production from gammadelta T Cells. *Cell Rep.* 27, 835-846.
146. Handschick,K., Beuerlein,K., Jurida,L., Bartkuhn,M., Muller,H., Soelch,J., Weber,A., Dittrich-Breiholz,O., Schneider,H., Scharfe,M., Jarek,M., Stellzig,J.,

- Schmitz,M.L., and Kracht,M. (2014). Cyclin-dependent kinase 6 is a chromatin-bound cofactor for NF-kappaB-dependent gene expression. *Mol. Cell* 53, 193-208.
147. Hao,S. and Baltimore,D. (2009). The stability of mRNA influences the temporal order of the induction of genes encoding inflammatory molecules. *Nat. Immunol.* 10, 281-288.
148. Harikumar,K.B., Yester,J.W., Surace,M.J., Oyeniran,C., Price,M.M., Huang,W.C., Hait,N.C., Allegood,J.C., Yamada,A., Kong,X., Lazear,H.M., Bhardwaj,R., Takabe,K., Diamond,M.S., Luo,C., Milstien,S., Spiegel,S., and Kordula,T. (2014). K63-linked polyubiquitination of transcription factor IRF1 is essential for IL-1-induced production of chemokines CXCL10 and CCL5. *Nat. Immunol.* 15, 231-238.
149. Hekmat-Nejad,M., Cai,T., and Swinney,D.C. (2010). Steady-state kinetic characterization of kinase activity and requirements for Mg²⁺ of interleukin-1 receptor-associated kinase-4. *Biochemistry* 49, 1495-1506.
150. Helal,O., Gostemeyer,G., Krois,J., Fawzy El,S.K., Graetz,C., and Schwendicke,F. (2019). Predictors for tooth loss in periodontitis patients: Systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Periodontol.* 46, 699-712.
151. Hickish,T., Andre,T., Wyrwicz,L., Saunders,M., Sarosiek,T., Kocsis,J., Nemecek,R., Rogowski,W., Lesniewski-Kmak,K., Petruzella,L., Apte,R.N., Mohanty,P., Stecher,M., Simard,J., and de,G.A. (2017). MABp1 as a novel antibody treatment for advanced colorectal cancer: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet Oncol.* 18, 192-201.
152. Hienz,S.A., Paliwal,S., and Ivanovski,S. (2015). Mechanisms of Bone Resorption in Periodontitis. *J. Immunol. Res.* 2015, 615486.
153. Hinz,M., Stilmann,M., Arslan,S.C., Khanna,K.K., Dittmar,G., and Scheidereit,C. (2010). A cytoplasmic ATM-TRAF6-cIAP1 module links nuclear DNA damage signaling to ubiquitin-mediated NF-kappaB activation. *Mol. Cell* 40, 63-74.
154. Ho,J.E., Chen,W.Y., Chen,M.H., Larson,M.G., McCabe,E.L., Cheng,S., Ghorbani,A., Coglianese,E., Emilsson,V., Johnson,A.D., Walter,S., Franceschini,N., O'Donnell,C.J., Dehghan,A., Lu,C., Levy,D., Newton-Cheh,C., Lin,H., Felix,J.F., Schreier,E.R., Vasan,R.S., Januzzi,J.L., Lee,R.T., and Wang,T.J. (2013). Common genetic variation at the IL1RL1 locus regulates IL-33/ST2 signaling. *J. Clin. Invest* 123, 4208-4218.
155. Hoffmann,A., Levchenko,A., Scott,M.L., and Baltimore,D. (2002). The IkappaB-NF-kappaB signaling module: temporal control and selective gene activation. *Science* 298, 1241-1245.
156. Hoffmann,J.N. and Faist,E. (2001). Removal of mediators by continuous hemofiltration in septic patients. *World J. Surg.* 25, 651-659.
157. Hojen,J.F., Kristensen,M.L.V., McKee,A.S., Wade,M.T., Azam,T., Lunding,L.P., de Graaf,D.M., Swartzwelter,B.J., Wegmann,M., Tolstrup,M.,

- Beckman,K., Fujita,M., Fischer,S., and Dinarello,C.A. (2019). IL-1R3 blockade broadly attenuates the functions of six members of the IL-1 family, revealing their contribution to models of disease. *Nat. Immunol.* *20*, 1138-1149.
158. Hojyo,S., Uchida,M., Tanaka,K., Hasebe,R., Tanaka,Y., Murakami,M., and Hirano,T. (2020). How COVID-19 induces cytokine storm with high mortality. *Inflamm. Regen.* *40*, 37.
159. Holmlund,A., Hanstrom,L., and Lerner,U.H. (2004). Bone resorbing activity and cytokine levels in gingival crevicular fluid before and after treatment of periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* *31*, 475-482.
160. Horai,R., Saijo,S., Tanioka,H., Nakae,S., Sudo,K., Okahara,A., Ikuse,T., Asano,M., and Iwakura,Y. (2000). Development of chronic inflammatory arthropathy resembling rheumatoid arthritis in interleukin 1 receptor antagonist-deficient mice. *J. Exp. Med.* *191*, 313-320.
161. Hormdee,D., Nagasawa,T., Kiji,M., Yashiro,R., Kobayashi,H., Koshy,G., Noguchi,K., Nitta,H., and Ishikawa,I. (2005). Protein kinase-A-dependent osteoprotegerin production on interleukin-1 stimulation in human gingival fibroblasts is distinct from periodontal ligament fibroblasts. *Clin. Exp. Immunol.* *142*, 490-497.
162. Hou,C., Meng,F., Zhang,Z., Kang,Y., Chen,W., Huang,G., Fu,M., Sheng,P., Zhang,Z., and Liao,W. (2015). The Role of MicroRNA-381 in Chondrogenesis and Interleukin-1-beta Induced Chondrocyte Responses. *Cell Physiol Biochem.* *36*, 1753-1766.
163. Huet,T., Beaussier,H., Voisin,O., Jouveshomme,S., Dauriat,G., Lazareth,I., Sacco,E., Naccache,J.M., Bezie,Y., Laplanche,S., Le,B.A., Le,P.J., Salmeron,S., Emmerich,J., Mourad,J.J., Chatellier,G., and Hayem,G. (2020). Anakinra for severe forms of COVID-19: a cohort study. *Lancet Rheumatol.* *2*, e393-e400.
164. Hyduke,D.R. and Palsson,B.O. (2010). Towards genome-scale signalling network reconstructions. *Nat. Rev. Genet.* *11*, 297-307.
165. Ikonomidis,I., Pavlidis,G., Katsimbri,P., Andreadou,I., Triantafyllidi,H., Tsoumani,M., Varoudi,M., Vlastos,D., Makavos,G., Kostelli,G., Betaenas,D., Lekakis,J., Parissis,J., Boumpas,D., Alexopoulos,D., and Iliodromitis,E. (2019). Differential effects of inhibition of interleukin 1 and 6 on myocardial, coronary and vascular function. *Clin. Res. Cardiol.* *108*, 1093-1101.
166. Jagielska,J., Kapopara,P.R., Salguero,G., Scherr,M., Schutt,H., Grote,K., Schieffer,B., and Bavendiek,U. (2012). Interleukin-1 assembles a proangiogenic signaling module consisting of caveolin-1, tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, p38-mitogen-activated protein kinase (MAPK), and MAPK-activated protein kinase 2 in endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* *32*, 1280-1288.
167. Jansen,T.L.T.A. and Janssen,M. (2019). Gout lessons from 2018: CARES, a direct comparison of febuxostat vs allopurinol, and CANTOS, IL1 blocker for cardiovascular risk minimisation. *Clin. Rheumatol.* *38*, 263-265.

168. Janssens,S., Burns,K., Tschopp,J., and Beyaert,R. (2002). Regulation of interleukin-1- and lipopolysaccharide-induced NF-kappaB activation by alternative splicing of MyD88. *Curr. Biol.* 12, 467-471.
169. Jefferies,C., Bowie,A., Brady,G., Cooke,E.L., Li,X., and O'Neill,L.A. (2001). Transactivation by the p65 subunit of NF-kappaB in response to interleukin-1 (IL-1) involves MyD88, IL-1 receptor-associated kinase 1, TRAF-6, and Rac1. *Mol. Cell Biol.* 21, 4544-4552.
170. Jeong,W., Kim,J., Bazer,F.W., Song,G., and Kim,J. (2016). Stimulatory effects of interleukin-1 beta on development of porcine uterine epithelial cell are mediated by activation of the ERK1/2 MAPK cell signaling cascade. *Mol. Cell Endocrinol.* 419, 225-234.
171. Jesus,A.A., Osman,M., Silva,C.A., Kim,P.W., Pham,T.H., Gadina,M., Yang,B., Bertola,D.R., Carneiro-Sampaio,M., Ferguson,P.J., Renshaw,B.R., Schooley,K., Brown,M., Al-Dosari,A., Al-Alami,J., Sims,J.E., Goldbach-Mansky,R., and El-Shanti,H. (2011). A novel mutation of IL1RN in the deficiency of interleukin-1 receptor antagonist syndrome: description of two unrelated cases from Brazil. *Arthritis Rheum.* 63, 4007-4017.
172. Jiang,Z., Ninomiya-Tsuji,J., Qian,Y., Matsumoto,K., and Li,X. (2002). Interleukin-1 (IL-1) receptor-associated kinase-dependent IL-1-induced signaling complexes phosphorylate TAK1 and TAB2 at the plasma membrane and activate TAK1 in the cytosol. *Mol. Cell Biol.* 22, 7158-7167.
173. Jimenez-Marin,A., Collado-Romero,M., Ramirez-Boo,M., Arce,C., and Garrido,J.J. (2009). Biological pathway analysis by ArrayUnlock and Ingenuity Pathway Analysis. *BMC. Proc.* 3 *Suppl* 4, S6.
174. Joosten,L.A., Netea,M.G., Mylona,E., Koenders,M.I., Malireddi,R.K., Oosting,M., Stienstra,R., van de Veerdonk,F.L., Stalenhoef,A.F., Giamarellos-Bourboulis,E.J., Kanneganti,T.D., and van der Meer,J.W. (2010). Engagement of fatty acids with Toll-like receptor 2 drives interleukin-1beta production via the ASC/caspase 1 pathway in monosodium urate monohydrate crystal-induced gouty arthritis. *Arthritis Rheum.* 62, 3237-3248.
175. Joosten,L.A., Smeets,R.L., Koenders,M.I., van den Bersselaar,L.A., Helsen,M.M., Oppers-Walgreen,B., Lubberts,E., Iwakura,Y., van de Loo,F.A., and van den Berg,W.B. (2004). Interleukin-18 promotes joint inflammation and induces interleukin-1-driven cartilage destruction. *Am. J. Pathol.* 165, 959-967.
176. Jules,J., Zhang,P., Ashley,J.W., Wei,S., Shi,Z., Liu,J., Michalek,S.M., and Feng,X. (2012). Molecular basis of requirement of receptor activator of nuclear factor kappaB signaling for interleukin 1-mediated osteoclastogenesis. *J. Biol. Chem.* 287, 15728-15738.
177. Jurida,L., Soelch,J., Bartkuhn,M., Handschick,K., Muller,H., Newel,D., Weber,A., Dittrich-Breiholz,O., Schneider,H., Bhuju,S., Saul,V.V., Schmitz,M.L., and Kracht,M. (2015). The Activation of IL-1-Induced Enhancers Depends on TAK1 Kinase Activity and NF-kappaB p65. *Cell Rep.*

178. Kamogashira,T., Masui,Y., Ohmoto,Y., Hirato,T., Nagamura,K., Mizuno,K., Hong,Y.M., Kikumoto,Y., Nakai,S., and Hirai,Y. (1988a). Site-specific mutagenesis of the human interleukin-1 beta gene: structure-function analysis of the cysteine residues. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *150*, 1106-1114.
179. Kamogashira,T., Sakaguchi,M., Ohmoto,Y., Mizuno,K., Shimizu,R., Nagamura,K., Nakai,S., Masui,Y., and Hirai,Y. (1988b). Site-specific mutagenesis of the human interleukin-1 beta gene: the role of arginine residue at the N-terminal region. *J. Biochem.* *104*, 837-840.
180. Kandasamy,K., Mohan,S.S., Raju,R., Keerthikumar,S., Kumar,G.S., Venugopal,A.K., Telikicherla,D., Navarro,J.D., Mathivanan,S., Pecquet,C., Gollapudi,S.K., Tattikota,S.G., Mohan,S., Padhukasahasram,H., Subbannayya,Y., Goel,R., Jacob,H.K., Zhong,J., Sekhar,R., Nanjappa,V., Balakrishnan,L., Subbaiah,R., Ramachandra,Y.L., Rahiman,B.A., Prasad,T.S., Lin,J.X., Houtman,J.C., Desiderio,S., Renauld,J.C., Constantinescu,S.N., Ohara,O., Hirano,T., Kubo,M., Singh,S., Khatri,P., Draghici,S., Bader,G.D., Sander,C., Leonard,W.J., and Pandey,A. (2010). NetPath: a public resource of curated signal transduction pathways. *Genome Biol.* *11*, R3.
181. Kanni,T., Argyropoulou,M., Dinarello,C.A., Simard,J., and Giamarellos-Bourboulis,E.J. (2021). MABp1 targeting interleukin-1alpha in hidradenitis suppurativa ineligible for adalimumab treatment: results of the open-label extension period. *Clin. Exp. Dermatol.* *46*, 162-163.
182. Kanni,T., Argyropoulou,M., Spyridopoulos,T., Pistiki,A., Stecher,M., Dinarello,C.A., Simard,J., and Giamarellos-Bourboulis,E.J. (2018). MABp1 Targeting IL-1alpha for Moderate to Severe Hidradenitis Suppurativa Not Eligible for Adalimumab: A Randomized Study. *J. Invest Dermatol.* *138*, 795-801.
183. Kaplanov,I., Carmi,Y., Kornetsky,R., Shemesh,A., Shurin,G.V., Shurin,M.R., Dinarello,C.A., Voronov,E., and Apte,R.N. (2019). Blocking IL-1beta reverses the immunosuppression in mouse breast cancer and synergizes with anti-PD-1 for tumor abrogation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* *116*, 1361-1369.
184. Kaplanski,G. (2018). Interleukin-18: Biological properties and role in disease pathogenesis. *Immunol. Rev.* *281*, 138-153.
185. Kaplanski,G., Farnarier,C., Kaplanski,S., Porat,R., Shapiro,L., Bongrand,P., and Dinarello,C.A. (1994). Interleukin-1 induces interleukin-8 secretion from endothelial cells by a juxtacrine mechanism. *Blood* *84*, 4242-4248.
186. Karakike,E. and Giamarellos-Bourboulis,E.J. (2019). Macrophage Activation-Like Syndrome: A Distinct Entity Leading to Early Death in Sepsis. *Front Immunol.* *10*, 55.
187. Karin,M. (2006). Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. *Nature* *441*, 431-436.
188. Kastner,D.L., Aksentijevich,I., and Goldbach-Mansky,R. (2010). Autoinflammatory disease reloaded: a clinical perspective. *Cell* *140*, 784-790.

189. Kato,K., Tokuda,H., Matsushima-Nishiwaki,R., Natsume,H., Kondo,A., Ito,Y., Kozawa,O., and Otsuka,T. (2012). AMPK limits IL-1-stimulated IL-6 synthesis in osteoblasts: involvement of IkappaB/NF-kappaB pathway. *Cell Signal.* 24, 1706-1712.
190. Kawagoe,T., Sato,S., Matsushita,K., Kato,H., Matsui,K., Kumagai,Y., Saitoh,T., Kawai,T., Takeuchi,O., and Akira,S. (2008). Sequential control of Toll-like receptor-dependent responses by IRAK1 and IRAK2. *Nat. Immunol.* 9, 684-691.
191. Keller,M., Ruegg,A., Werner,S., and Beer,H.D. (2008). Active caspase-1 is a regulator of unconventional protein secretion. *Cell* 132, 818-831.
192. Kim,T.W., Yu,M., Zhou,H., Cui,W., Wang,J., DiCorleto,P., Fox,P., Xiao,H., and Li,X. (2012). Pellino 2 is critical for Toll-like receptor/interleukin-1 receptor (TLR/IL-1R)-mediated post-transcriptional control. *J. Biol. Chem.* 287, 25686-25695.
193. Kluck,V., Jansen,T.L.T.A., Janssen,M., Comarniceanu,A., Efde,M., Tengesdal,I.W., Schraa,K., Cleophas,M.C.P., Scribner,C.L., Skouras,D.B., Marchetti,C., Dinarello,C.A., and Joosten,L.A.B. (2020a). Dapansutril, an oral selective NLRP3 inflammasome inhibitor, for treatment of gout flares: an open-label, dose-adaptive, proof-of-concept, phase 2a trial. *Lancet Rheumatol.* 2, e270-e280.
194. Kluck,V., Liu,R., and Joosten,L.A.B. (2020b). The role of interleukin-1 family members in hyperuricemia and gout. *Joint Bone Spine* 105092.
195. Koide,M., Suda,S., Saitoh,S., Ofuji,Y., Suzuki,T., Yoshie,H., Takai,M., Ono,Y., Taniguchi,Y., and Hara,K. (1995). In vivo administration of IL-1 beta accelerates silk ligature-induced alveolar bone resorption in rats. *J. Oral Pathol. Med.* 24, 420-434.
196. Kondo,A., Otsuka,T., Matsushima-Nishiwaki,R., Kuroyanagi,G., Mizutani,J., Wada,I., Kozawa,O., and Tokuda,H. (2013). Inhibition of SAPK/JNK leads to enhanced IL-1-induced IL-6 synthesis in osteoblasts. *Arch. Biochem. Biophys.* 535, 227-233.
197. Kooistra,E.J., Waalders,N.J.B., Grondman,I., Janssen,N.A.F., de Nooijer,A.H., Netea,M.G., van de Veerdonk,F.L., Ewalds,E., van der Hoeven,J.G., Kox,M., and Pickkers,P. (2020a). Anakinra treatment in critically ill COVID-19 patients: a prospective cohort study. *Crit Care* 24, 688.
198. Kooistra,E.J., Waalders,N.J.B., Kox,M., and Pickkers,P. (2020b). Effect of anakinra in COVID-19. *Lancet Rheumatol.* 2, e523-e524.
199. Kracht,M. and Saklatvala,J. (2002). Transcriptional and post-transcriptional control of gene expression in inflammation. *Cytokine* 20, 91-106.
200. Kramer,A., Green,J., Pollard,J., Jr., and Tugendreich,S. (2014). Causal analysis approaches in Ingenuity Pathway Analysis. *Bioinformatics.* 30, 523-530.

201. Krelin,Y., Voronov,E., Dotan,S., Elkabets,M., Reich,E., Fogel,M., Huszar,M., Iwakura,Y., Segal,S., Dinarello,C.A., and Apte,R.N. (2007). Interleukin-1beta-driven inflammation promotes the development and invasiveness of chemical carcinogen-induced tumors. *Cancer Res.* 67, 1062-1071.
202. Krippendorff,K. (2004). Reliability in Content Analysis: Some Common Misconceptions and Recommendations. *Human Communication Research* 411-433.
203. Krumm,B., Xiang,Y., and Deng,J. (2014). Structural biology of the IL-1 superfamily: key cytokines in the regulation of immune and inflammatory responses. *Protein Sci.* 23, 526-538.
204. Kuemmerle-Deschner,J.B., Welzel,T., Hoertnagel,K., Tsiflikas,I., Hospach,A., Liu,X., Schlipf,S., Hansmann,S., Samba,S.D., Griesinger,A., Benseler,S.M., and Weber,A.N. (2020). New variant in the IL1RN-gene (DIRA) associated with late-onset, CRMO-like presentation. *Rheumatology. (Oxford)* 59, 3259-3263.
205. Kumar,S., Hanning,C.R., Brigham-Burke,M.R., Rieman,D.J., Lehr,R., Khandekar,S., Kirkpatrick,R.B., Scott,G.F., Lee,J.C., Lynch,F.J., Gao,W., Gambotto,A., and Lotze,M.T. (2002). Interleukin-1F7B (IL-1H4/IL-1F7) is processed by caspase-1 and mature IL-1F7B binds to the IL-18 receptor but does not induce IFN-gamma production. *Cytokine* 18, 61-71.
206. Kurashima,Y. and Kiyono,H. (2014). New era for mucosal mast cells: their roles in inflammation, allergic immune responses and adjuvant development. *Exp. Mol. Med.* 46, e83.
207. Kurtis,B., Tuter,G., Serdar,M., Akdemir,P., Uygur,C., Firatli,E., and Bal,B. (2005). Gingival crevicular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 and tumor necrosis factor-alpha in patients with chronic and aggressive periodontitis. *J. Periodontol.* 76, 1849-1855.
208. Lachmann,H.J., Lowe,P., Felix,S.D., Rordorf,C., Leslie,K., Madhoo,S., Wittkowski,H., Bek,S., Hartmann,N., Bosset,S., Hawkins,P.N., and Jung,T. (2009). In vivo regulation of interleukin 1beta in patients with cryopyrin-associated periodic syndromes. *J. Exp. Med.* 206, 1029-1036.
209. Larsen,C.M., Faulenbach,M., Vaag,A., Ehses,J.A., Donath,M.Y., and Mandrup-Poulsen,T. (2009). Sustained effects of interleukin-1 receptor antagonist treatment in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 32, 1663-1668.
210. Lefrancais,E., Roga,S., Gautier,V., Gonzalez-de-Peredo,A., Monsarrat,B., Girard,J.P., and Cayrol,C. (2012). IL-33 is processed into mature bioactive forms by neutrophil elastase and cathepsin G. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 109, 1673-1678.
211. Li,Q., Dai,Z., Cao,Y., and Wang,L. (2019). Caspase-1 inhibition mediates neuroprotection in experimental stroke by polarizing M2 microglia/macrophage and suppressing NF-kappaB activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 513, 479-485.

212. Li,S., Strelow,A., Fontana,E.J., and Wesche,H. (2002a). IRAK-4: a novel member of the IRAK family with the properties of an IRAK-kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 99, 5567-5572.
213. Li,S., Strelow,A., Fontana,E.J., and Wesche,H. (2002b). IRAK-4: a novel member of the IRAK family with the properties of an IRAK-kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 99, 5567-5572.
214. Liew,F.Y., Pitman,N.I., and McInnes,I.B. (2010). Disease-associated functions of IL-33: the new kid in the IL-1 family. *Nat. Rev. Immunol.* 10, 103-110.
215. Liu,X., Hammel,M., He,Y., Tainer,J.A., Jeng,U.S., Zhang,L., Wang,S., and Wang,X. (2013). Structural insights into the interaction of IL-33 with its receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 110, 14918-14923.
216. Luo,H., Liu,Y., Li,Q., Liao,L., Sun,R., Liu,X., Jiang,M., and Hu,J. (2015). A20 regulates IL-1-induced tolerant production of CXC chemokines in human mesangial cells via inhibition of MAPK signaling. *Sci. Rep.* 5, 18007.
217. Luo,L.J., Liu,F., Lin,Z.K., Xie,Y.F., Xu,J.L., Tong,Q.C., and Shu,R. (2012). Genistein regulates the IL-1 beta induced activation of MAPKs in human periodontal ligament cells through G protein-coupled receptor 30. *Arch. Biochem. Biophys.* 522, 9-16.
218. Ma,B., van Blitterswijk,C.A., and Karperien,M. (2012). A Wnt/beta-catenin negative feedback loop inhibits interleukin-1-induced matrix metalloproteinase expression in human articular chondrocytes. *Arthritis Rheum.* 64, 2589-2600.
219. Maedler,K., Sergeev,P., Ris,F., Oberholzer,J., Joller-Jemelka,H.I., Spinas,G.A., Kaiser,N., Halban,P.A., and Donath,M.Y. (2002). Glucose-induced beta cell production of IL-1beta contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *J. Clin. Invest* 110, 851-860.
220. Maffia,P. and Guzik,T.J. (2019). When, where, and how to target vascular inflammation in the post-CANTOS era? *Eur. Heart J.* 40, 2492-2494.
221. Maksymowych,W.P., Rahman,P., Reeve,J.P., Gladman,D.D., Peddle,L., and Inman,R.D. (2006). Association of the IL1 gene cluster with susceptibility to ankylosing spondylitis: an analysis of three Canadian populations. *Arthritis Rheum.* 54, 974-985.
222. Mancini,S.J., White,A.D., Bijland,S., Rutherford,C., Graham,D., Richter,E.A., Viollet,B., Touyz,R.M., Palmer,T.M., and Salt,I.P. (2017). Activation of AMP-activated protein kinase rapidly suppresses multiple pro-inflammatory pathways in adipocytes including IL-1 receptor-associated kinase-4 phosphorylation. *Mol. Cell Endocrinol.* 440, 44-56.
223. Mandrup-Poulsen,T., Pickersgill,L., and Donath,M.Y. (2010). Blockade of interleukin 1 in type 1 diabetes mellitus. *Nat. Rev. Endocrinol.* 6, 158-166.
224. Mansfield,E., Chae,J.J., Komarow,H.D., Brotz,T.M., Frucht,D.M., Aksentijevich,I., and Kastner,D.L. (2001). The familial Mediterranean fever

- protein, pyrin, associates with microtubules and colocalizes with actin filaments. *Blood* 98, 851-859.
225. Mantovani,A., Allavena,P., Sica,A., and Balkwill,F. (2008). Cancer-related inflammation. *Nature* 454, 436-444.
 226. Mantovani,A., Barajon,I., and Garlanda,C. (2018). IL-1 and IL-1 regulatory pathways in cancer progression and therapy. *Immunol. Rev.* 281, 57-61.
 227. Mantovani,A., Cassatella,M.A., Costantini,C., and Jaillon,S. (2011). Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 11, 519-531.
 228. Mantovani,A., Dinarello,C.A., Molgora,M., and Garlanda,C. (2019). Interleukin-1 and Related Cytokines in the Regulation of Inflammation and Immunity. *Immunity.* 50, 778-795.
 229. Maqbool,A., Hemmings,K.E., O'Regan,D.J., Ball,S.G., Porter,K.E., and Turner,N.A. (2013). Interleukin-1 has opposing effects on connective tissue growth factor and tenascin-C expression in human cardiac fibroblasts. *Matrix Biol.* 32, 208-214.
 230. March,C.J., Mosley,B., Larsen,A., Cerretti,D.P., Braedt,G., Price,V., Gillis,S., Henney,C.S., Kronheim,S.R., Grabstein,K., and . (1985). Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. *Nature* 315, 641-647.
 231. Martinez-Taboada,V.M., Fontalba,A., Blanco,R., and Fernandez-Luna,J.L. (2005). Successful treatment of refractory Schnitzler syndrome with anakinra: comment on the article by Hawkins et al. *Arthritis Rheum.* 52, 2226-2227.
 232. Martinon,F., Burns,K., and Tschopp,J. (2002). The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol. Cell* 10, 417-426.
 233. Martinon,F., Petrilli,V., Mayor,A., Tardivel,A., and Tschopp,J. (2006). Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* 440, 237-241.
 234. Masters,S.L., Dunne,A., Subramanian,S.L., Hull,R.L., Tannahill,G.M., Sharp,F.A., Becker,C., Franchi,L., Yoshihara,E., Chen,Z., Mullooly,N., Mielke,L.A., Harris,J., Coll,R.C., Mills,K.H., Mok,K.H., Newsholme,P., Nunez,G., Yodoi,J., Kahn,S.E., Lavelle,E.C., and O'Neill,L.A. (2010). Activation of the NLRP3 inflammasome by islet amyloid polypeptide provides a mechanism for enhanced IL-1beta in type 2 diabetes. *Nat. Immunol.* 11, 897-904.
 235. Masters,S.L., Simon,A., Aksentijevich,I., and Kastner,D.L. (2009). Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease (*). *Annu. Rev. Immunol.* 27, 621-668.
 236. Mayr-Buro,C., Schlereth,E., Beuerlein,K., Tenekeci,U., Meier-Soelch,J., Schmitz,M.L., and Kracht,M. (2019). Single-Cell Analysis of Multiple Steps of

- Dynamic NF-kappaB Regulation in Interleukin-1alpha-Triggered Tumor Cells Using Proximity Ligation Assays. *Cancers*. (Basel) *11*.
237. Mazodier,K., Marin,V., Novick,D., Farnarier,C., Robitail,S., Schleinitz,N., Veit,V., Paul,P., Rubinstein,M., Dinarello,C.A., Harle,J.R., and Kaplanski,G. (2005). Severe imbalance of IL-18/IL-18BP in patients with secondary hemophagocytic syndrome. *Blood* *106*, 3483-3489.
 238. McDermott,M.F., Aksentijevich,I., Galon,J., McDermott,E.M., Ogunkolade,B.W., Centola,M., Mansfield,E., Gadina,M., Karenko,L., Pettersson,T., McCarthy,J., Frucht,D.M., Aringer,M., Torosyan,Y., Teppo,A.M., Wilson,M., Karaarslan,H.M., Wan,Y., Todd,I., Wood,G., Schlimgen,R., Kumarajeewa,T.R., Cooper,S.M., Vella,J.P., Amos,C.I., Mulley,J., Quane,K.A., Molloy,M.G., Ranki,A., Powell,R.J., Hitman,G.A., O'Shea,J.J., and Kastner,D.L. (1999). Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. *Cell* *97*, 133-144.
 239. McDevitt,M.J., Wang,H.Y., Knobelmann,C., Newman,M.G., di Giovine,F.S., Timms,J., Duff,G.W., and Kornman,K.S. (2000). Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice. *J. Periodontol.* *71*, 156-163.
 240. McHedlidze,T., Waldner,M., Zopf,S., Walker,J., Rankin,A.L., Schuchmann,M., Voehringer,D., McKenzie,A.N., Neurath,M.F., Pflanz,S., and Wirtz,S. (2013). Interleukin-33-dependent innate lymphoid cells mediate hepatic fibrosis. *Immunity*. *39*, 357-371.
 241. McNamee,E.N., Masterson,J.C., Jedlicka,P., McManus,M., Grenz,A., Collins,C.B., Nold,M.F., Nold-Petry,C., Bufler,P., Dinarello,C.A., and Rivera-Nieves,J. (2011). Interleukin 37 expression protects mice from colitis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* *108*, 16711-16716.
 242. Medzhitov,R., Preston-Hurlburt,P., Kopp,E., Stadlen,A., Chen,C., Ghosh,S., and Janeway,C.A., Jr. (1998). MyD88 is an adaptor protein in the hToll/IL-1 receptor family signaling pathways. *Mol. Cell* *2*, 253-258.
 243. Meier-Soelch,J., Jurida,L., Weber,A., Newel,D., Kim,J., Braun,T., Schmitz,M.L., and Kracht,M. (2018). RNAi-Based Identification of Gene-Specific Nuclear Cofactor Networks Regulating Interleukin-1 Target Genes. *Front Immunol.* *9*, 775.
 244. Miller,D.D. and Brown,E.W. (2018). Artificial Intelligence in Medical Practice: The Question to the Answer? *Am. J. Med.* *131*, 129-133.
 245. Murakami,Y., Tripathi,L.P., Prathipati,P., and Mizuguchi,K. (2017). Network analysis and in silico prediction of protein-protein interactions with applications in drug discovery. *Curr. Opin. Struct. Biol.* *44*, 134-142.
 246. Muroi,M. and Tanamoto,K. (2008). TRAF6 distinctively mediates MyD88- and IRAK-1-induced activation of NF-kappaB. *J. Leukoc. Biol.* *83*, 702-707.

247. Muzio,M., Ni,J., Feng,P., and Dixit,V.M. (1997). IRAK (Pelle) family member IRAK-2 and MyD88 as proximal mediators of IL-1 signaling. *Science* 278, 1612-1615.
248. Nagarsheth,N., Wicha,M.S., and Zou,W. (2017). Chemokines in the cancer microenvironment and their relevance in cancer immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* 17, 559-572.
249. Navarro-Millan,I., Sattui,S.E., Lakhanpal,A., Zisa,D., Siegel,C.H., and Crow,M.K. (2020). Use of Anakinra to Prevent Mechanical Ventilation in Severe COVID-19: A Case Series. *Arthritis Rheumatol.* 72, 1990-1997.
250. Neill,D.R., Wong,S.H., Bellosi,A., Flynn,R.J., Daly,M., Langford,T.K., Bucks,C., Kane,C.M., Fallon,P.G., Pannell,R., Jolin,H.E., and McKenzie,A.N. (2010). Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type-2 immunity. *Nature* 464, 1367-1370.
251. Netea,M.G., Balkwill,F., Chonchol,M., Cominelli,F., Donath,M.Y., Giamarellos-Bourboulis,E.J., Golenbock,D., Gresnigt,M.S., Heneka,M.T., Hoffman,H.M., Hotchkiss,R., Joosten,L.A.B., Kastner,D.L., Korte,M., Latz,E., Libby,P., Mandrup-Poulsen,T., Mantovani,A., Mills,K.H.G., Nowak,K.L., O'Neill,L.A., Pickkers,P., van der Poll,T., Ridker,P.M., Schalkwijk,J., Schwartz,D.A., Siegmund,B., Steer,C.J., Tilg,H., van der Meer,J.W.M., van de Veerdonk,F.L., and Dinarello,C.A. (2017). A guiding map for inflammation. *Nat. Immunol.* 18, 826-831.
252. Netea,M.G., Joosten,L.A., Lewis,E., Jensen,D.R., Voshol,P.J., Kullberg,B.J., Tack,C.J., van,K.H., Kim,S.H., Stalenhoef,A.F., van de Loo,F.A., Verschueren,I., Pulawa,L., Akira,S., Eckel,R.H., Dinarello,C.A., van den Berg,W., and van der Meer,J.W. (2006). Deficiency of interleukin-18 in mice leads to hyperphagia, obesity and insulin resistance. *Nat. Med.* 12, 650-656.
253. Newton,K., Matsumoto,M.L., Wertz,I.E., Kirkpatrick,D.S., Lill,J.R., Tan,J., Dugger,D., Gordon,N., Sidhu,S.S., Fellouse,F.A., Komuves,L., French,D.M., Ferrando,R.E., Lam,C., Compaa,D., Yu,C., Bosanac,I., Hymowitz,S.G., Kelley,R.F., and Dixit,V.M. (2008). Ubiquitin chain editing revealed by polyubiquitin linkage-specific antibodies. *Cell* 134, 668-678.
254. Nguyen,L., Rothwell,N.J., Pinteaux,E., and Boutin,H. (2011). Contribution of interleukin-1 receptor accessory protein B to interleukin-1 actions in neuronal cells. *Neurosignals.* 19, 222-230.
255. Nicklin,M.J., Hughes,D.E., Barton,J.L., Ure,J.M., and Duff,G.W. (2000). Arterial inflammation in mice lacking the interleukin 1 receptor antagonist gene. *J. Exp. Med.* 191, 303-312.
256. Nolan,K.F., Greaves,D.R., and Waldmann,H. (1998). The human interleukin 18 gene IL18 maps to 11q22.2-q22.3, closely linked to the DRD2 gene locus and distinct from mapped IDDM loci. *Genomics* 51, 161-163.
257. Nold,M.F., Mangan,N.E., Rudloff,I., Cho,S.X., Shariatian,N., Samarasinghe,T.D., Skuza,E.M., Pedersen,J., Veldman,A., Berger,P.J., and Nold-

- Petry,C.A. (2013). Interleukin-1 receptor antagonist prevents murine bronchopulmonary dysplasia induced by perinatal inflammation and hyperoxia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* *110*, 14384-14389.
258. Nold,M.F., Nold-Petry,C.A., Zepp,J.A., Palmer,B.E., Bufler,P., and Dinarello,C.A. (2010). IL-37 is a fundamental inhibitor of innate immunity. *Nat. Immunol.* *11*, 1014-1022.
259. Nold-Petry,C.A., Nold,M.F., Nielsen,J.W., Bustamante,A., Zepp,J.A., Storm,K.A., Hong,J.W., Kim,S.H., and Dinarello,C.A. (2009). Increased cytokine production in interleukin-18 receptor alpha-deficient cells is associated with dysregulation of suppressors of cytokine signaling. *J. Biol. Chem.* *284*, 25900-25911.
260. O'Neill,L.A. (2008). The interleukin-1 receptor/Toll-like receptor superfamily: 10 years of progress. *Immunol. Rev.* *226*, 10-18.
261. Oboki,K., Ohno,T., Kajiwarra,N., Arae,K., Morita,H., Ishii,A., Nambu,A., Abe,T., Kiyonari,H., Matsumoto,K., Sudo,K., Okumura,K., Saito,H., and Nakae,S. (2010). IL-33 is a crucial amplifier of innate rather than acquired immunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* *107*, 18581-18586.
262. Oda,K. and Kitano,H. (2006). A comprehensive map of the toll-like receptor signaling network. *Mol. Syst. Biol.* *2*, 2006.
263. Ohba,T., Ariga,Y., MaruYama,T., Truong,N.K., Inoue,J., and Muta,T. (2012). Identification of interleukin-1 receptor-associated kinase 1 as a critical component that induces post-transcriptional activation of IkappaB-zeta. *FEBS J.* *279*, 211-222.
264. Ordureau,A., Smith,H., Windheim,M., Peggie,M., Carrick,E., Morrice,N., and Cohen,P. (2008). The IRAK-catalysed activation of the E3 ligase function of Pellino isoforms induces the Lys63-linked polyubiquitination of IRAK1. *Biochem. J.* *409*, 43-52.
265. Orzalli,M.H., Smith,A., Jurado,K.A., Iwasaki,A., Garlick,J.A., and Kagan,J.C. (2018). An Antiviral Branch of the IL-1 Signaling Pathway Restricts Immune-Evasive Virus Replication. *Mol. Cell* *71*, 825-840.
266. Papagianni,A., Fores,M., Shao,W., He,S., Koenecke,N., Andreu,M.J., Samper,N., Paroush,Z., Gonzalez-Crespo,S., Zeitlinger,J., and Jimenez,G. (2018). Capicua controls Toll/IL-1 signaling targets independently of RTK regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* *115*, 1807-1812.
267. Papathanasiou,E., Conti,P., Carinci,F., Lauritano,D., and Theoharides,T.C. (2020). IL-1 Superfamily Members and Periodontal Diseases. *J. Dent. Res.* *99*, 1425-1434.
268. Pascual,V., Allantaz,F., Arce,E., Punaro,M., and Banchereau,J. (2005). Role of interleukin-1 (IL-1) in the pathogenesis of systemic onset juvenile idiopathic arthritis and clinical response to IL-1 blockade. *J. Exp. Med.* *201*, 1479-1486.

269. Pavlowsky,A., Zanchi,A., Pallotto,M., Giustetto,M., Chelly,J., Sala,C., and Billuart,P. (2010). Neuronal JNK pathway activation by IL-1 is mediated through IL1RAPL1, a protein required for development of cognitive functions. *Commun. Integr. Biol.* 3, 245-247.
270. Perozini,C., Chibebe,P.C., Leao,M.V., Queiroz,C.S., and Pallos,D. (2010). Gingival crevicular fluid biochemical markers in periodontal disease: a cross-sectional study. *Quintessence. Int.* 41, 877-883.
271. Pers,J.O., Saraux,A., Pierre,R., and Youinou,P. (2008). Anti-TNF-alpha immunotherapy is associated with increased gingival inflammation without clinical attachment loss in subjects with rheumatoid arthritis. *J. Periodontol.* 79, 1645-1651.
272. Pfeilschifter,J., Chenu,C., Bird,A., Mundy,G.R., and Roodman,G.D. (1989). Interleukin-1 and tumor necrosis factor stimulate the formation of human osteoclastlike cells in vitro. *J. Bone Miner. Res.* 4, 113-118.
273. Pico,A.R., Kelder,T., van Iersel,M.P., Hanspers,K., Conklin,B.R., and Evelo,C. (2008). WikiPathways: pathway editing for the people. *PLoS. Biol.* 6, e184.
274. Pinero,J., Furlong,L.I., and Sanz,F. (2018). In silico models in drug development: where we are. *Curr. Opin. Pharmacol.* 42, 111-121.
275. Pizarro,T.T. and Cominelli,F. (2007). Cloning IL-1 and the birth of a new era in cytokine biology. *J. Immunol.* 178, 5411-5412.
276. Pomerantz,B.J., Reznikov,L.L., Harken,A.H., and Dinarello,C.A. (2001). Inhibition of caspase 1 reduces human myocardial ischemic dysfunction via inhibition of IL-18 and IL-1beta. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 98, 2871-2876.
277. Puren,A.J., Fantuzzi,G., and Dinarello,C.A. (1999). Gene expression, synthesis, and secretion of interleukin 18 and interleukin 1beta are differentially regulated in human blood mononuclear cells and mouse spleen cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 96, 2256-2261.
278. Radons,J., Falk,W., and Dove,S. (2015). Identification of critical regions within the TIR domain of IL-1 receptor type I. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 68, 15-20.
279. Rafferty,B.J., Unger,B.L., Perey,A.C., Tammariello,S.P., Pavlides,S., and McGee,D.W. (2012). A novel role for the Rho-associated kinase, ROCK, in IL-1-stimulated intestinal epithelial cell responses. *Cell Immunol.* 280, 148-155.
280. Rahman,P., Sun,S., Peddle,L., Snelgrove,T., Melay,W., Greenwood,C., and Gladman,D. (2006). Association between the interleukin-1 family gene cluster and psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum.* 54, 2321-2325.
281. Ramirez,J. and Canete,J.D. (2018). Anakinra for the treatment of rheumatoid arthritis: a safety evaluation. *Expert. Opin. Drug Saf* 17, 727-732.
282. Rao,N., Nguyen,S., Ngo,K., and Fung-Leung,W.P. (2005). A novel splice variant of interleukin-1 receptor (IL-1R)-associated kinase 1 plays a negative regulatory

- role in Toll/IL-1R-induced inflammatory signaling. *Mol. Cell Biol.* 25, 6521-6532.
283. Reddy,S., Jia,S., Geoffrey,R., Lorier,R., Suchi,M., Broeckel,U., Hessner,M.J., and Verbsky,J. (2009). An autoinflammatory disease due to homozygous deletion of the IL1RN locus. *N. Engl. J. Med.* 360, 2438-2444.
 284. Renner,F. and Schmitz,M.L. (2009). Autoregulatory feedback loops terminating the NF-kappaB response. *Trends Biochem. Sci.* 34, 128-135.
 285. Rider,P., Carmi,Y., Guttman,O., Braiman,A., Cohen,I., Voronov,E., White,M.R., Dinarello,C.A., and Apte,R.N. (2011). IL-1alpha and IL-1beta recruit different myeloid cells and promote different stages of sterile inflammation. *J. Immunol.* 187, 4835-4843.
 286. Ridker,P.M. (2019). Anti-inflammatory therapy for atherosclerosis: interpreting divergent results from the CANTOS and CIRT clinical trials. *J. Intern. Med.* 285, 503-509.
 287. Ridker,P.M., Everett,B.M., Thuren,T., MacFadyen,J.G., Chang,W.H., Ballantyne,C., Fonseca,F., Nicolau,J., Koenig,W., Anker,S.D., Kastelein,J.J.P., Cornel,J.H., Pais,P., Pella,D., Genest,J., Cifkova,R., Lorenzatti,A., Forster,T., Kobalava,Z., Vida-Simiti,L., Flather,M., Shimokawa,H., Ogawa,H., Dellborg,M., Rossi,P.R.F., Troquay,R.P.T., Libby,P., and Glynn,R.J. (2017a). Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N. Engl. J. Med.* 377, 1119-1131.
 288. Ridker,P.M., MacFadyen,J.G., Glynn,R.J., Koenig,W., Libby,P., Everett,B.M., Lefkowitz,M., Thuren,T., and Cornel,J.H. (2018). Inhibition of Interleukin-1beta by Canakinumab and Cardiovascular Outcomes in Patients With Chronic Kidney Disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 71, 2405-2414.
 289. Ridker,P.M., MacFadyen,J.G., Thuren,T., Everett,B.M., Libby,P., and Glynn,R.J. (2017b). Effect of interleukin-1beta inhibition with canakinumab on incident lung cancer in patients with atherosclerosis: exploratory results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 390, 1833-1842.
 290. Rizk,J.G., Kalantar-Zadeh,K., Mehra,M.R., Lavie,C.J., Rizk,Y., and Forthal,D.N. (2020). Pharmaco-Immunomodulatory Therapy in COVID-19. *Drugs* 80, 1267-1292.
 291. Rodriguez-Prados,J.C., Traves,P.G., Cuenca,J., Rico,D., Aragonés,J., Martín-Sanz,P., Cascante,M., and Bosca,L. (2010). Substrate fate in activated macrophages: a comparison between innate, classic, and alternative activation. *J. Immunol.* 185, 605-614.
 292. Rothman,A.M., MacFadyen,J., Thuren,T., Webb,A., Harrison,D.G., Guzik,T.J., Libby,P., Glynn,R.J., and Ridker,P.M. (2020). Effects of Interleukin-1beta Inhibition on Blood Pressure, Incident Hypertension, and Residual Inflammatory Risk: A Secondary Analysis of CANTOS. *Hypertension* 75, 477-482.

293. Roux,K.J. (2013). Marked by association: techniques for proximity-dependent labeling of proteins in eukaryotic cells. *Cell Mol. Life Sci.* 70, 3657-3664.
294. Rusai,K., Huang,H., Sayed,N., Strobl,M., Roos,M., Schmaderer,C., Heemann,U., and Lutz,J. (2008). Administration of interleukin-1 receptor antagonist ameliorates renal ischemia-reperfusion injury. *Transpl. Int.* 21, 572-580.
295. Russo,M.V. and McGavern,D.B. (2015). Immune Surveillance of the CNS following Infection and Injury. *Trends Immunol.* 36, 637-650.
296. Ryan,J.G., de Koning,H.D., Beck,L.A., Booty,M.G., Kastner,D.L., and Simon,A. (2008). IL-1 blockade in Schnitzler syndrome: ex vivo findings correlate with clinical remission. *J. Allergy Clin. Immunol.* 121, 260-262.
297. Ryll,A., Samaga,R., Schaper,F., Alexopoulos,L.G., and Klamt,S. (2011). Large-scale network models of IL-1 and IL-6 signalling and their hepatocellular specification. *Mol. Biosyst.* 7, 3253-3270.
298. Rzczkowski,K., Beuerlein,K., Muller,H., Dittrich-Breiholz,O., Schneider,H., Kettner-Buhrow,D., Holtmann,H., and Kracht,M. (2011). c-Jun N-terminal kinase phosphorylates DCP1a to control formation of P bodies. *J. Cell Biol.* 194, 581-596.
299. Saez-Rodriguez,J., Simeoni,L., Lindquist,J.A., Hemenway,R., Bommhardt,U., Arndt,B., Haus,U.U., Weismantel,R., Gilles,E.D., Klamt,S., and Schraven,B. (2007). A logical model provides insights into T cell receptor signaling. *PLoS. Comput. Biol.* 3, e163.
300. Sakai,N., Van Sweringen,H.L., Belizaire,R.M., Quillin,R.C., Schuster,R., Blanchard,J., Burns,J.M., Tevar,A.D., Edwards,M.J., and Lentsch,A.B. (2012). Interleukin-37 reduces liver inflammatory injury via effects on hepatocytes and non-parenchymal cells. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 27, 1609-1616.
301. Salcedo,R., Cataisson,C., Hasan,U., Yuspa,S.H., and Trinchieri,G. (2013). MyD88 and its divergent toll in carcinogenesis. *Trends Immunol.* 34, 379-389.
302. Schaefer,C.F., Anthony,K., Krupa,S., Buchoff,J., Day,M., Hannay,T., and Buetow,K.H. (2009). PID: the Pathway Interaction Database. *Nucleic Acids Res.* 37, D674-D679.
303. Schauvliege,R., Janssens,S., and Beyaert,R. (2006). Pellino proteins are more than scaffold proteins in TLR/IL-1R signalling: a role as novel RING E3-ubiquitin-ligases. *FEBS Lett.* 580, 4697-4702.
304. Schimmack,G., Schorpp,K., Kutzner,K., Gehring,T., Brenke,J.K., Hadian,K., and Krappmann,D. (2017). YOD1/TRAF6 association balances p62-dependent IL-1 signaling to NF-kappaB. *Elife.* 6.
305. Schmitz,M.L., Weber,A., Roxlau,T., Gaestel,M., and Kracht,M. (2011). Signal integration, crosstalk mechanisms and networks in the function of inflammatory cytokines. *Biochim. Biophys. Acta* 1813, 2165-2175.

306. Scott,I.C., Hajela,V., Hawkins,P.N., and Lachmann,H.J. (2011). A case series and systematic literature review of anakinra and immunosuppression in idiopathic recurrent pericarditis. *J. Cardiol. Cases.* 4, e93-e97.
307. Shao,C., Lawrence,M.C., and Cobb,M.H. (2010). Regulation of CCAAT/enhancer-binding protein homologous protein (CHOP) expression by interleukin-1 beta in pancreatic beta cells. *J. Biol. Chem.* 285, 19710-19719.
308. Sharma,S., Kulk,N., Nold,M.F., Graf,R., Kim,S.H., Reinhardt,D., Dinarello,C.A., and Bufler,P. (2008). The IL-1 family member 7b translocates to the nucleus and down-regulates proinflammatory cytokines. *J. Immunol.* 180, 5477-5482.
309. Shembade,N., Pujari,R., Harhaj,N.S., Abbott,D.W., and Harhaj,E.W. (2011). The kinase IKKalpha inhibits activation of the transcription factor NF-kappaB by phosphorylating the regulatory molecule TAX1BP1. *Nat. Immunol.* 12, 834-843.
310. Siegmund,B., Lehr,H.A., Fantuzzi,G., and Dinarello,C.A. (2001). IL-1 beta -converting enzyme (caspase-1) in intestinal inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 98, 13249-13254.
311. Simon,A., Park,H., Maddipati,R., Lobito,A.A., Bulua,A.C., Jackson,A.J., Chae,J.J., Ettinger,R., de Koning,H.D., Cruz,A.C., Kastner,D.L., Komarow,H., and Siegel,R.M. (2010). Concerted action of wild-type and mutant TNF receptors enhances inflammation in TNF receptor 1-associated periodic fever syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 107, 9801-9806.
312. Sims,J.E., Nicklin,M.J., Bazan,J.F., Barton,J.L., Busfield,S.J., Ford,J.E., Kastelein,R.A., Kumar,S., Lin,H., Mulero,J.J., Pan,J., Pan,Y., Smith,D.E., and Young,P.R. (2001). A new nomenclature for IL-1-family genes. *Trends Immunol.* 22, 536-537.
313. Sims,J.E. and Smith,D.E. (2010). The IL-1 family: regulators of immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 10, 89-102.
314. Smith,J.W., Longo,D.L., Alvord,W.G., Janik,J.E., Sharfman,W.H., Gause,B.L., Curti,B.D., Creekmore,S.P., Holmlund,J.T., Fenton,R.G., and . (1993). The effects of treatment with interleukin-1 alpha on platelet recovery after high-dose carboplatin. *N. Engl. J. Med.* 328, 756-761.
315. Smith,P.M., Jacque,B., Conner,J.R., Poltorak,A., and Stadercker,M.J. (2011). IRAK-2 regulates IL-1-mediated pathogenic Th17 cell development in helminthic infection. *PLoS. Pathog.* 7, e1002272.
316. So,A., Dumusc,A., and Nasi,S. (2018). The role of IL-1 in gout: from bench to bedside. *Rheumatology. (Oxford)* 57, i12-i19.
317. Sorenson,B.S., Khammanivong,A., Guenther,B.D., Ross,K.F., and Herzberg,M.C. (2012). IL-1 receptor regulates S100A8/A9-dependent keratinocyte resistance to bacterial invasion. *Mucosal. Immunol.* 5, 66-75.
318. Soriano,A., Soriano,M., Espinosa,G., Manna,R., Emmi,G., Cantarini,L., and Hernandez-Rodriguez,J. (2020). Current Therapeutic Options for the Main

- Monogenic Autoinflammatory Diseases and PFAPA Syndrome: Evidence-Based Approach and Proposal of a Practical Guide. *Front Immunol.* **11**, 865.
319. Stashenko,P., Fujiyoshi,P., Obernesser,M.S., Prostack,L., Haffajee,A.D., and Socransky,S.S. (1991). Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* **18**, 548-554.
 320. Stienstra,R., van Diepen,J.A., Tack,C.J., Zaki,M.H., van de Veerdonk,F.L., Perera,D., Neale,G.A., Hooiveld,G.J., Hijmans,A., Vroegrijk,I., van den Berg,S., Romijn,J., Rensen,P.C., Joosten,L.A., Netea,M.G., and Kanneganti,T.D. (2011). Inflammasome is a central player in the induction of obesity and insulin resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **108**, 15324-15329.
 321. Stoffels,M. and Simon,A. (2011). Hyper-IgD syndrome or mevalonate kinase deficiency. *Curr. Opin. Rheumatol.* **23**, 419-423.
 322. Stojanov,S., Lapidus,S., Chitkara,P., Feder,H., Salazar,J.C., Fleisher,T.A., Brown,M.R., Edwards,K.M., Ward,M.M., Colbert,R.A., Sun,H.W., Wood,G.M., Barham,B.K., Jones,A., Aksentijevich,I., Goldbach-Mansky,R., Athreya,B., Barron,K.S., and Kastner,D.L. (2011). Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis (PFAPA) is a disorder of innate immunity and Th1 activation responsive to IL-1 blockade. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **108**, 7148-7153.
 323. Strickson,S., Emmerich,C.H., Goh,E.T.H., Zhang,J., Kelsall,I.R., Macartney,T., Hastie,C.J., Knebel,A., Peggie,M., Marchesi,F., Arthur,J.S.C., and Cohen,P. (2017). Roles of the TRAF6 and Pellino E3 ligases in MyD88 and RANKL signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **114**, E3481-E3489.
 324. Sylvester,J., El,M.M., Ahmad,R., Chaudry,A., and Zafarullah,M. (2012). Interleukin-1 induction of aggrecanase gene expression in human articular chondrocytes is mediated by mitogen-activated protein kinases. *Cell Physiol Biochem.* **30**, 563-574.
 325. Szturz,P., Adam,Z., Sediva,A., Fojtik,Z., Corbova,D., Neubauer,J., Prasek,J., Hajek,R., and Mayer,J. (2011). [Schnitzler syndrome: diagnostics and treatment]. *Klin. Onkol.* **24**, 271-277.
 326. Tabb,D.L. (2015). The SEQUEST family tree. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **26**, 1814-1819.
 327. Tack,C.J., Stienstra,R., Joosten,L.A., and Netea,M.G. (2012). Inflammation links excess fat to insulin resistance: the role of the interleukin-1 family. *Immunol. Rev.* **249**, 239-252.
 328. Tan,S.Y. and Weninger,W. (2017). Neutrophil migration in inflammation: intercellular signal relay and crosstalk. *Curr. Opin. Immunol.* **44**, 34-42.
 329. Tannahill,G.M., Curtis,A.M., Adamik,J., Palsson-McDermott,E.M., McGettrick,A.F., Goel,G., Frezza,C., Bernard,N.J., Kelly,B., Foley,N.H., Zheng,L., Gardet,A., Tong,Z., Jany,S.S., Corr,S.C., Haneklaus,M., Caffrey,B.E., Pierce,K., Walmsley,S., Beasley,F.C., Cummins,E., Nizet,V., Whyte,M.,

- Taylor,C.T., Lin,H., Masters,S.L., Gottlieb,E., Kelly,V.P., Clish,C., Auron,P.E., Xavier,R.J., and O'Neill,L.A. (2013). Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1beta through HIF-1alpha. *Nature* 496, 238-242.
330. Taoro-Gonzalez,L., Arenas,Y.M., Cabrera-Pastor,A., and Felipo,V. (2018). Hyperammonemia alters membrane expression of GluA1 and GluA2 subunits of AMPA receptors in hippocampus by enhancing activation of the IL-1 receptor: underlying mechanisms. *J. Neuroinflammation*. 15, 36.
 331. Tarp,S., Amarilyo,G., Foeldvari,I., Christensen,R., Woo,J.M., Cohen,N., Pope,T.D., and Furst,D.E. (2016). Efficacy and safety of biological agents for systemic juvenile idiopathic arthritis: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Rheumatology. (Oxford)* 55, 669-679.
 332. Thomas,C., Bazan,J.F., and Garcia,K.C. (2012). Structure of the activating IL-1 receptor signaling complex. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 19, 455-457.
 333. Tombetti,E., Mule,A., Tamanini,S., Matteucci,L., Negro,E., Brucato,A., and Carnovale,C. (2020). Novel Pharmacotherapies for Recurrent Pericarditis: Current Options in 2020. *Curr. Cardiol. Rep.* 22, 59.
 334. Toplak,N., Blazina,S., and Avcin,T. (2018). The role of IL-1 inhibition in systemic juvenile idiopathic arthritis: current status and future perspectives. *Drug Des Devel. Ther.* 12, 1633-1643.
 335. Tortola,L., Rosenwald,E., Abel,B., Blumberg,H., Schafer,M., Coyle,A.J., Renaud,J.C., Werner,S., Kisielow,J., and Kopf,M. (2012). Psoriasiform dermatitis is driven by IL-36-mediated DC-keratinocyte crosstalk. *J. Clin. Invest* 122, 3965-3976.
 336. Towne,J.E., Renshaw,B.R., Douangpanya,J., Lipsky,B.P., Shen,M., Gabel,C.A., and Sims,J.E. (2011). Interleukin-36 (IL-36) ligands require processing for full agonist (IL-36alpha, IL-36beta, and IL-36gamma) or antagonist (IL-36Ra) activity. *J. Biol. Chem.* 286, 42594-42602.
 337. Tsilioni,I., Pantazopoulos,H., Conti,P., Leeman,S.E., and Theoharides,T.C. (2020). IL-38 inhibits microglial inflammatory mediators and is decreased in amygdala of children with autism spectrum disorder. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 117, 16475-16480.
 338. Turner,M.D., Nedjai,B., Hurst,T., and Pennington,D.J. (2014). Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim. Biophys. Acta* 1843, 2563-2582.
 339. Ummarino,D. (2017). Experimental arthritis: IL-38 promotes anti-inflammatory effects. *Nat. Rev. Rheumatol.* 13, 260.
 340. van Asseldonk,E.J., Stienstra,R., Koenen,T.B., Joosten,L.A., Netea,M.G., and Tack,C.J. (2011). Treatment with Anakinra improves disposition index but not insulin sensitivity in nondiabetic subjects with the metabolic syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 96, 2119-2126.

341. van de Veerdonk,F.L., Stoeckman,A.K., Wu,G., Boeckermann,A.N., Azam,T., Netea,M.G., Joosten,L.A., van der Meer,J.W., Hao,R., Kalabokis,V., and Dinarello,C.A. (2012). IL-38 binds to the IL-36 receptor and has biological effects on immune cells similar to IL-36 receptor antagonist. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 109, 3001-3005.
342. van den Akker,G.G., van Beuningen,H.M., Vitters,E.L., Koenders,M.I., van de Loo,F.A., van Lent,P.L., Blaney Davidson,E.N., and van der Kraan,P.M. (2017). Interleukin 1 beta-induced SMAD2/3 linker modifications are TAK1 dependent and delay TGFbeta signaling in primary human mesenchymal stem cells. *Cell Signal.* 40, 190-199.
343. van Iersel,M.P., Kelder,T., Pico,A.R., Hanspers,K., Coort,S., Conklin,B.R., and Evelo,C. (2008). Presenting and exploring biological pathways with PathVisio. *BMC. Bioinformatics.* 9, 399.
344. Van Tassell,B.W., Arena,R.A., Toldo,S., Mezzaroma,E., Azam,T., Seropian,I.M., Shah,K., Canada,J., Voelkel,N.F., Dinarello,C.A., and Abbate,A. (2012). Enhanced interleukin-1 activity contributes to exercise intolerance in patients with systolic heart failure. *PLoS. One.* 7, e33438.
345. Van Tassell,B.W., Lipinski,M.J., Appleton,D., Roberts,C.S., Kontos,M.C., Abouzaki,N., Melchior,R., Mueller,G., Garnett,J., Canada,J., Carbone,S., Buckley,L.F., Wohlford,G., Kadariya,D., Trankle,C.R., Oddi,E.C., Sculthorpe,R., Puckett,L., DeWilde,C., Shah,K., Angiolillo,D.J., Vetrovec,G., Biondi-Zoccai,G., Arena,R., and Abbate,A. (2018a). Rationale and design of the Virginia Commonwealth University-Anakinra Remodeling Trial-3 (VCU-ART3): A randomized, placebo-controlled, double-blinded, multicenter study. *Clin. Cardiol.* 41, 1004-1008.
346. Van Tassell,B.W., Trankle,C.R., Canada,J.M., Carbone,S., Buckley,L., Kadariya,D., Del Buono,M.G., Billingsley,H., Wohlford,G., Viscusi,M., Oddi-Erdle,C., Abouzaki,N.A., Dixon,D., Biondi-Zoccai,G., Arena,R., and Abbate,A. (2018b). IL-1 Blockade in Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Circ. Heart Fail.* 11, e005036.
347. Vandanmagsar,B., Youm,Y.H., Ravussin,A., Galgani,J.E., Stadler,K., Mynatt,R.L., Ravussin,E., Stephens,J.M., and Dixit,V.D. (2011). The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat. Med.* 17, 179-188.
348. Varnaite,R. and MacNeill,S.A. (2016). Meet the neighbors: Mapping local protein interactomes by proximity-dependent labeling with BioID. *Proteomics.* 16, 2503-2518.
349. Vigne,S., Palmer,G., Lamacchia,C., Martin,P., Talabot-Ayer,D., Rodriguez,E., Ronchi,F., Sallusto,F., Dinh,H., Sims,J.E., and Gabay,C. (2011). IL-36R ligands are potent regulators of dendritic and T cells. *Blood* 118, 5813-5823.
350. Vigne,S., Palmer,G., Martin,P., Lamacchia,C., Strebel,D., Rodriguez,E., Olleros,M.L., Vesin,D., Garcia,I., Ronchi,F., Sallusto,F., Sims,J.E., and Gabay,C.

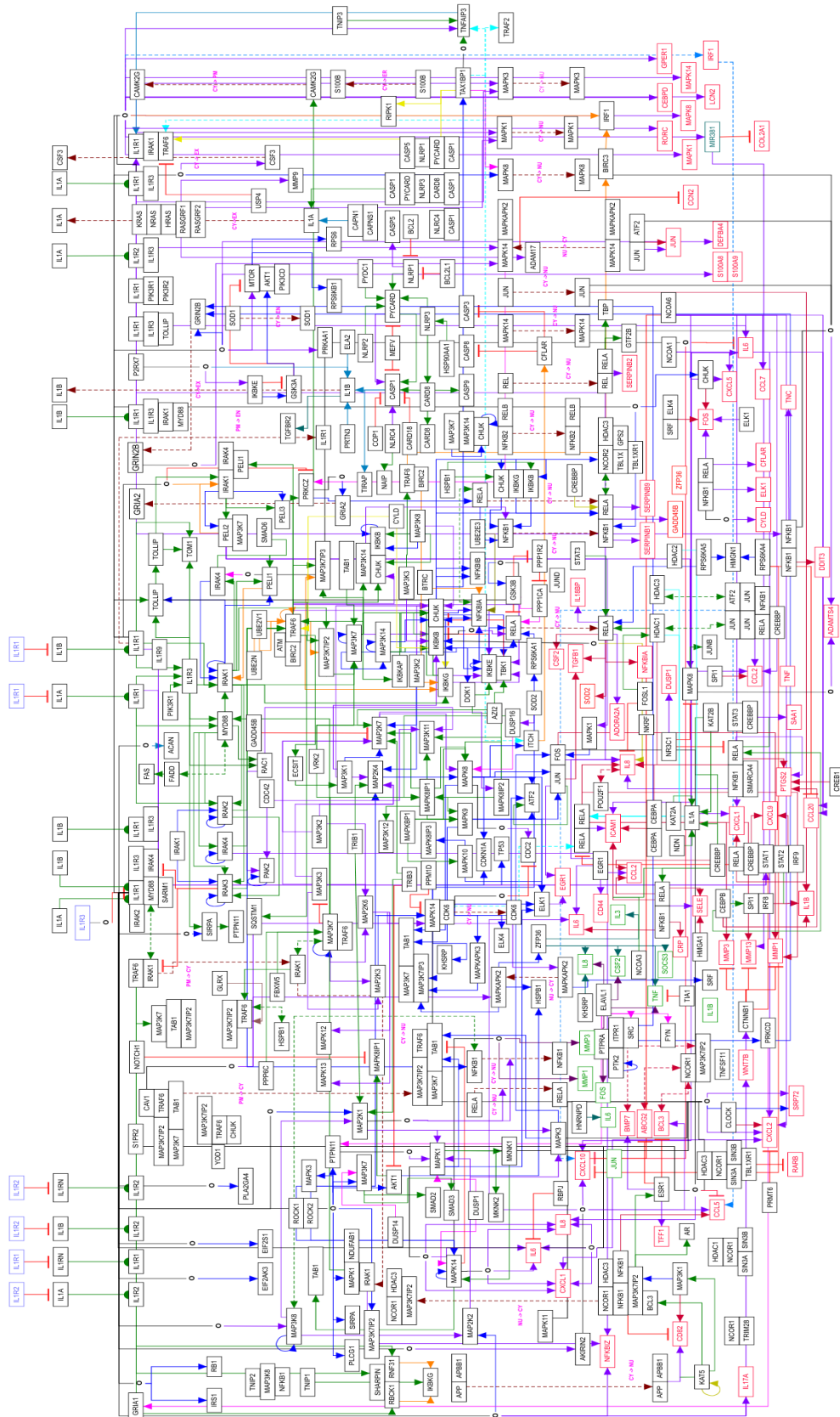
- (2012). IL-36 signaling amplifies Th1 responses by enhancing proliferation and Th1 polarization of naive CD4⁺ T cells. *Blood* 120, 3478-3487.
351. Vollmer,S., Strickson,S., Zhang,T., Gray,N., Lee,K.L., Rao,V.R., and Cohen,P. (2017). The mechanism of activation of IRAK1 and IRAK4 by interleukin-1 and Toll-like receptor agonists. *Biochem. J.* 474, 2027-2038.
 352. Voronov,E., Carmi,Y., and Apte,R.N. (2014). The role IL-1 in tumor-mediated angiogenesis. *Front Physiol* 5, 114.
 353. Voronov,E., Dinarello,C.A., and Apte,R.N. (2018). Interleukin-1alpha as an intracellular alarmin in cancer biology. *Semin. Immunol.* 38, 3-14.
 354. Wang,D., Zhang,S., Li,L., Liu,X., Mei,K., and Wang,X. (2010a). Structural insights into the assembly and activation of IL-1beta with its receptors. *Nat. Immunol.* 11, 905-911.
 355. Wang,Q., Delcorde,J., Tang,T., Downey,G.P., and McCulloch,C.A. (2018). Regulation of IL-1 signaling through control of focal adhesion assembly. *FASEB J.* 32, 3119-3132.
 356. Wang,Q., Downey,G.P., and McCulloch,C.A. (2011). Focal adhesions and Ras are functionally and spatially integrated to mediate IL-1 activation of ERK. *FASEB J.* 25, 3448-3464.
 357. Wang,Q., Rajshankar,D., Laschinger,C., Talior-Volodarsky,I., Wang,Y., Downey,G.P., and McCulloch,C.A. (2010b). Importance of protein-tyrosine phosphatase-alpha catalytic domains for interactions with SHP-2 and interleukin-1-induced matrix metalloproteinase-3 expression. *J. Biol. Chem.* 285, 22308-22317.
 358. Wang,Q., Wang,Y., Downey,G.P., Plotnikov,S., and McCulloch,C.A. (2016). A ternary complex comprising FAK, PTPalpha and IP3 receptor 1 functionally engages focal adhesions and the endoplasmic reticulum to mediate IL-1-induced Ca²⁺ signalling in fibroblasts. *Biochem. J.* 473, 397-410.
 359. Wang,Q., Wang,Y., Fritz,D., Rajshankar,D., Downey,G.P., and McCulloch,C.A. (2014). Interactions of the protein-tyrosine phosphatase-alpha with the focal adhesion targeting domain of focal adhesion kinase are involved in interleukin-1 signaling in fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 289, 18427-18441.
 360. Wareham,K.J. and Seward,E.P. (2016). P2X7 receptors induce degranulation in human mast cells. *Purinergic. Signal.* 12, 235-246.
 361. Wasiliew,P. (2014). Erstellung einer Signaltransduktionskarte für das proinflammatorische Zytokin Interleukin-1. (Giessen: Lauferweiler).
 362. Weber,A., Wasiliew,P., and Kracht,M. (2010a). Interleukin-1 (IL-1) pathway. *Sci. Signal.* 3, cm1.
 363. Weber,A., Wasiliew,P., and Kracht,M. (2010b). Interleukin-1beta (IL-1beta) processing pathway. *Sci. Signal.* 3, cm2.

- 364. Weiterer,S.S., Meier-Soelch,J., Georgomanolis,T., Mizi,A., Beyerlein,A., Weiser,H., Brant,L., Mayr-Buro,C., Jurida,L., Beuerlein,K., Muller,H., Weber,A., Tenekeci,U., Dittrich-Breiholz,O., Bartkuhn,M., Nist,A., Stiewe,T., van IJcken,W.F., Riedlinger,T., Schmitz,M.L., Papantonis,A., and Kracht,M. (2020). Distinct IL-1alpha-responsive enhancers promote acute and coordinated changes in chromatin topology in a hierarchical manner. *EMBO J.* 39, e101533.
- 365. Wesche,H., Gao,X., Li,X., Kirschning,C.J., Stark,G.R., and Cao,Z. (1999). IRAK-M is a novel member of the Pelle/interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK) family. *J. Biol. Chem.* 274, 19403-19410.
- 366. Wesche,H., Henzel,W.J., Shillinglaw,W., Li,S., and Cao,Z. (1997). MyD88: an adapter that recruits IRAK to the IL-1 receptor complex. *Immunity.* 7, 837-847.
- 367. Windheim,M. (2016). Interleukin-1-induced gene expression requires the membrane-raft-dependent internalization of the interleukin-1 receptor. *Cell Signal.* 28, 1520-1529.
- 368. Winsor,N., Krustev,C., Bruce,J., Philpott,D.J., and Girardin,S.E. (2019). Canonical and noncanonical inflammasomes in intestinal epithelial cells. *Cell Microbiol.* 21, e13079.
- 369. Wirtz,M. (2002). Beurteilerübereinstimmung und Beurteilerreliabilität : Methoden zur Bestimmung und Verbesserung der Zuverlässigkeit von Einschätzungen mittels Kategoriensystemen und Ratingskalen. Hogrefe).
- 370. Wu,B., Xu,T., Li,Y., and Yin,X. (2018). Interventions for reducing inflammation in familial Mediterranean fever. *Cochrane. Database. Syst. Rev.* 10, CD010893.
- 371. Xie,L., Huang,Z., Li,H., Liu,X., Zheng,S., and Su,W. (2019). IL-38: A New Player in Inflammatory Autoimmune Disorders. *Biomolecules.* 9.
- 372. Yamamoto,M., Yamazaki,S., Uematsu,S., Sato,S., Hemmi,H., Hoshino,K., Kaisho,T., Kuwata,H., Takeuchi,O., Takeshige,K., Saitoh,T., Yamaoka,S., Yamamoto,N., Yamamoto,S., Muta,T., Takeda,K., and Akira,S. (2004). Regulation of Toll/IL-1-receptor-mediated gene expression by the inducible nuclear protein IkappaBzeta. *Nature* 430, 218-222.
- 373. Yasuda,K., Nakanishi,K., and Tsutsui,H. (2019). Interleukin-18 in Health and Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 20.
- 374. Yester,J.W., Bryan,L., Waters,M.R., Mierzenski,B., Biswas,D.D., Gupta,A.S., Bhardwaj,R., Surace,M.J., Eltit,J.M., Milstien,S., Spiegel,S., and Kordula,T. (2015). Sphingosine-1-phosphate inhibits IL-1-induced expression of C-C motif ligand 5 via c-Fos-dependent suppression of IFN-beta amplification loop. *FASEB J.* 29, 4853-4865.
- 375. Youn,J.Y., Dunham,W.H., Hong,S.J., Knight,J.D.R., Bashkurov,M., Chen,G.I., Bagci,H., Rathod,B., MacLeod,G., Eng,S.W.M., Angers,S., Morris,Q., Fabian,M., Cote,J.F., and Gingras,A.C. (2018). High-Density Proximity Mapping Reveals the Subcellular Organization of mRNA-Associated Granules and Bodies. *Mol. Cell* 69, 517-532.

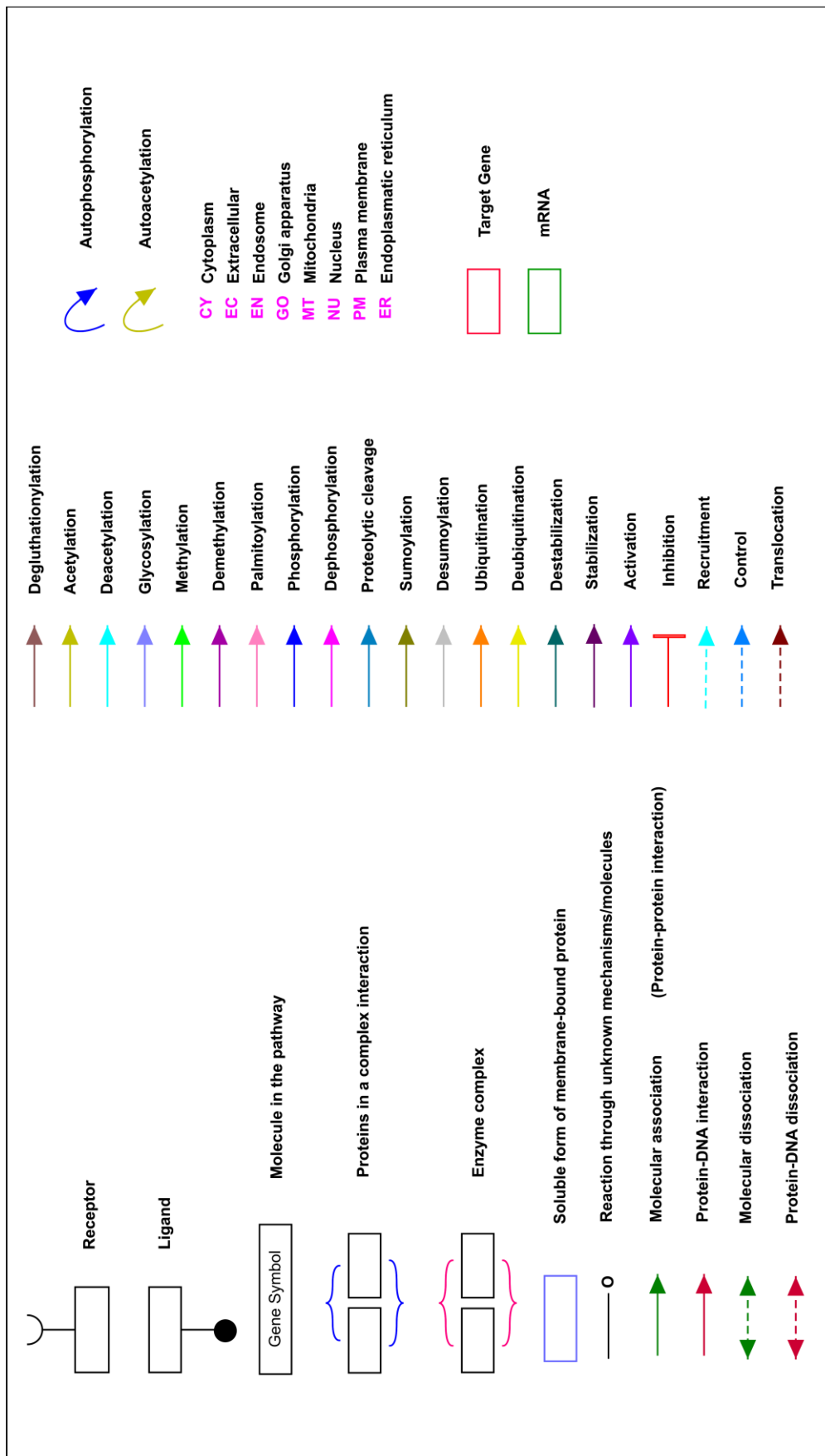
376. Zaiss,M.M., Maslowski,K.M., Mosconi,I., Guenat,N., Marsland,B.J., and Harris,N.L. (2013). IL-1beta suppresses innate IL-25 and IL-33 production and maintains helminth chronicity. *PLoS. Pathog.* 9, e1003531.
377. Zarrabi,M., Gholijani,N., Shenavandeh,S., Aflaki,E., and Amirghofran,Z. (2019). IL-38 serum levels in patients with Behcet's disease and the relationship with clinical features. *Eur. Cytokine Netw.* 30, 82-87.
378. Zhang,J., Clark,K., Lawrence,T., Peggie,M.W., and Cohen,P. (2014). An unexpected twist to the activation of IKKbeta: TAK1 primes IKKbeta for activation by autophosphorylation. *Biochem. J.* 461, 531-537.
379. Zhang,J., Macartney,T., Peggie,M., and Cohen,P. (2017). Interleukin-1 and TRAF6-dependent activation of TAK1 in the absence of TAB2 and TAB3. *Biochem. J.* 474, 2235-2248.
380. Zhang,K., Biroshak,J., Glass,D.N., Thompson,S.D., Finkel,T., Passo,M.H., Binstadt,B.A., Filipovich,A., and Grom,A.A. (2008). Macrophage activation syndrome in patients with systemic juvenile idiopathic arthritis is associated with MUNC13-4 polymorphisms. *Arthritis Rheum.* 58, 2892-2896.
381. Zhao,J., Wei,J., Mialki,R.K., Mallampalli,D.F., Chen,B.B., Coon,T., Zou,C., Mallampalli,R.K., and Zhao,Y. (2012). F-box protein FBXL19-mediated ubiquitination and degradation of the receptor for IL-33 limits pulmonary inflammation. *Nat. Immunol.* 13, 651-658.
382. Zheng,H., Li,Q., Chen,R., Zhang,J., Ran,Y., He,X., Li,S., and Shu,H.B. (2013). The dual-specificity phosphatase DUSP14 negatively regulates tumor necrosis factor- and interleukin-1-induced nuclear factor-kappaB activation by dephosphorylating the protein kinase TAK1. *J. Biol. Chem.* 288, 819-825.
383. Zhou,F., Zhang,X., van,D.H., Ten,D.P., Huang,H., and Zhang,L. (2012). Ubiquitin-specific protease 4 mitigates Toll-like/interleukin-1 receptor signaling and regulates innate immune activation. *J. Biol. Chem.* 287, 11002-11010.
384. Zhuang,Z., Yoshizawa-Smith,S., Glowacki,A., Maltos,K., Pacheco,C., Shehabeldin,M., Mulkeen,M., Myers,N., Chong,R., Verdelis,K., Garlet,G.P., Little,S., and Sfeir,C. (2019). Induction of M2 Macrophages Prevents Bone Loss in Murine Periodontitis Models. *J. Dent. Res.* 98, 200-208.
385. Ziesche,E., Kettner-Buhrow,D., Weber,A., Wittwer,T., Jurida,L., Soelch,J., Muller,H., Newel,D., Kronich,P., Schneider,H., Dittrich-Breiholz,O., Bhaskara,S., Hiebert,S.W., Hottiger,M.O., Li,H., Burstein,E., Schmitz,M.L., and Kracht,M. (2013). The coactivator role of histone deacetylase 3 in IL-1-signaling involves deacetylation of p65 NF-kappaB. *Nucleic Acids Res.* 41, 90-109.

8 ANHANG

8.1 Abbildung A1: IL-1-Signaltransduktionskarte

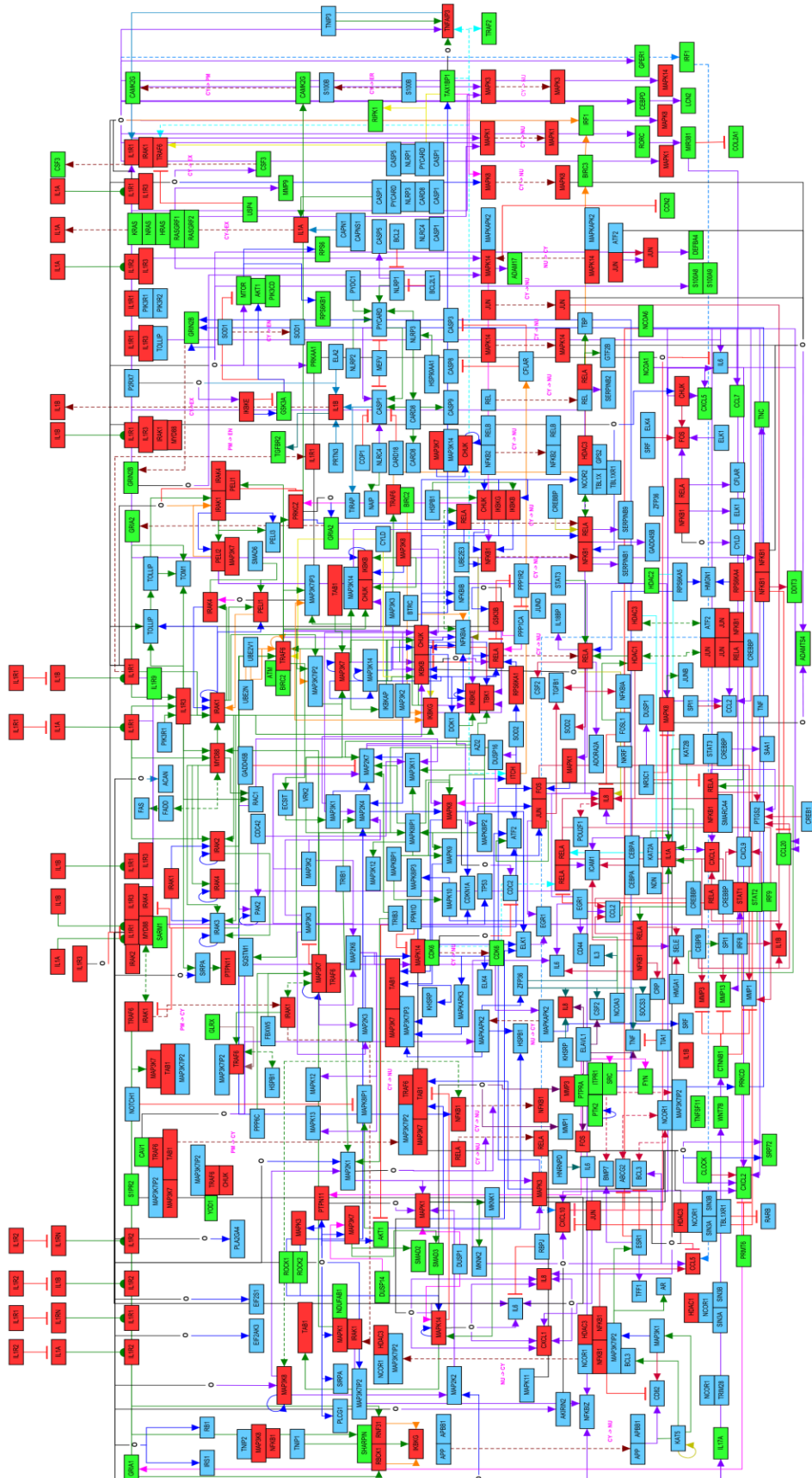


8.2 Abbildung A2: Legende der IL-1-Signaltransduktionskarte

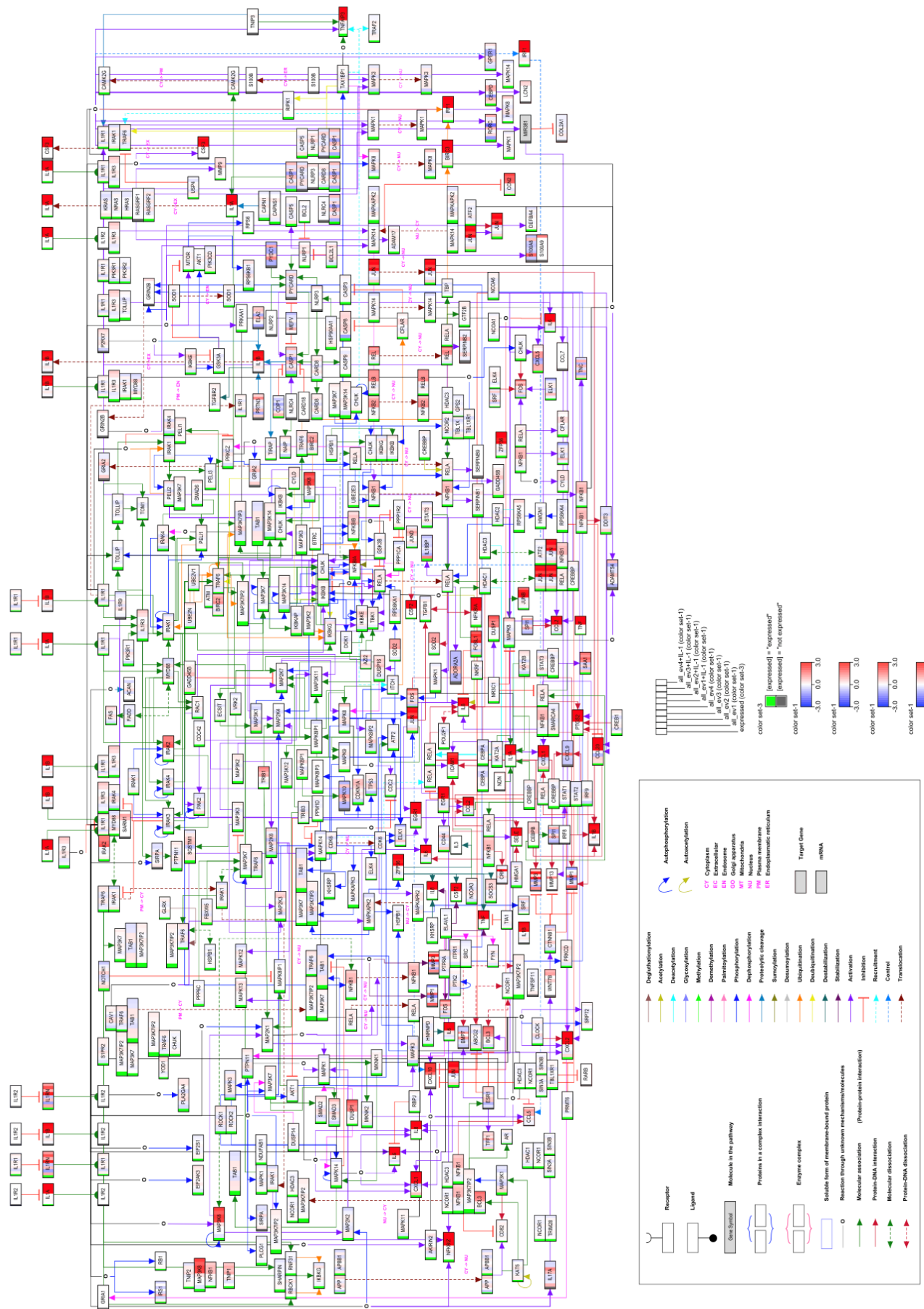


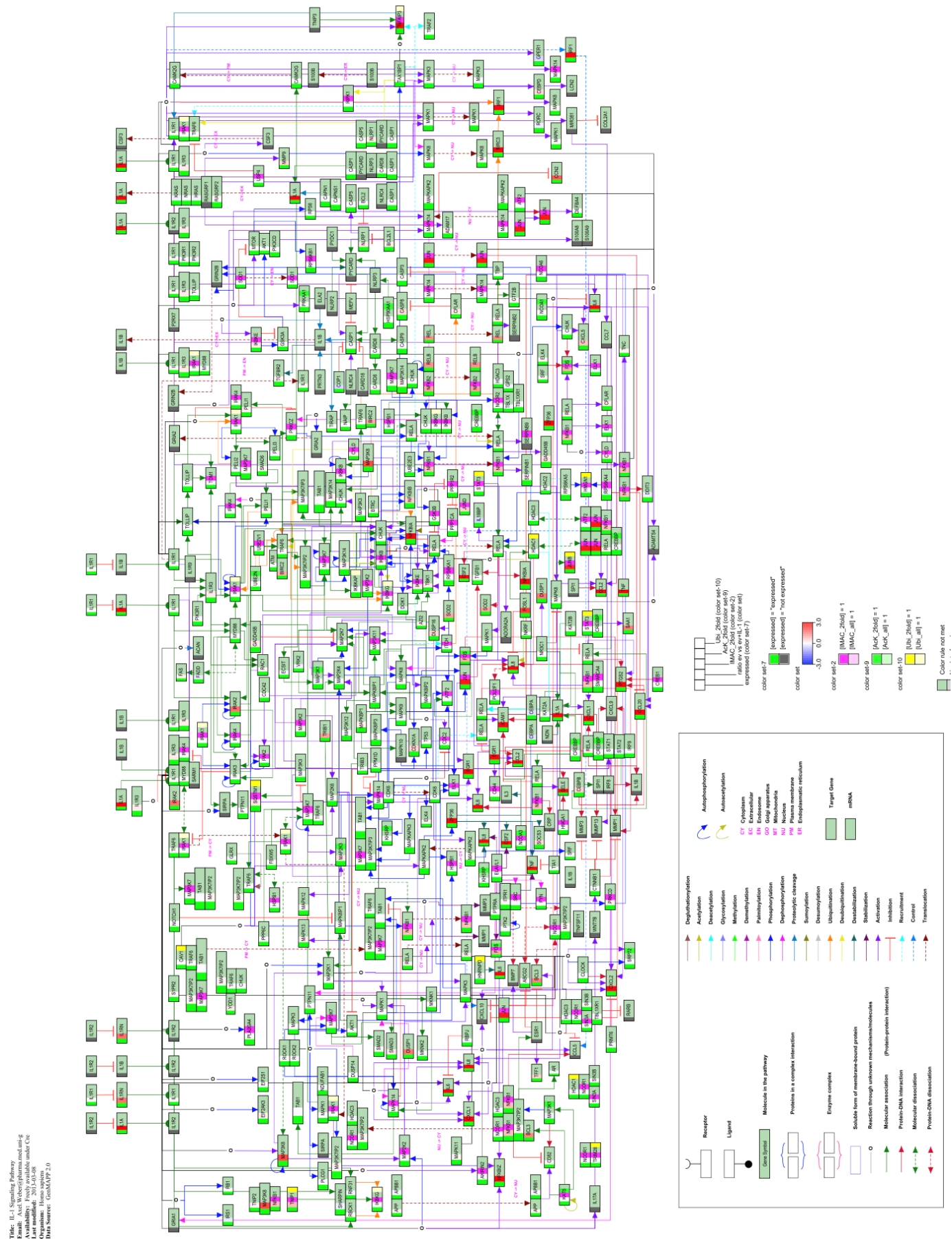
8.3 Abbildung A3: Die Autoren der IL-1-Signaltransduktionskarte

Grün: Moritz Bleyemehl. Blau: Peter Wasiliew, Rot: Beide Autoren



8.4 Abbildung A4: Projektion der Transkriptomdaten



8.5 **Abbildung A5: Projektion der Proteomdaten**

8.6 Publikationsliste

1. A Weber, M Bleymehl, P Wasiliew, O Dittrich-Breiholz, H Gu, M Kracht
NAUNYN-SCHMIEDEBERGS ARCHIVES OF PHARMACOLOGY 393
(SUPPL 1), 70-70. 2020/2/1. Volume 393, supplement issue 1, February 2020,
Abstracts of the 86th Annual Meeting of the German Society for Experimental
and Clinical Pharmacology and Toxicology (DGPT) With contribution of the
Arbeitsgemeinschaft für Angewandte Humanpharmakologie e. V. (AGAH)
Content type: Abstract Published: 10 February 2020 Pages: 1 – 97. 5. German
Pharm-Tox Summit, 2020, 02.03. - 05.03.2020, Leipzig

8.7 Ehrenwörtliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Darmstadt, 15.08.2021

Moritz Bleymehl

8.8 Danksagung

Ohne die Unterstützung bestimmter Personen wäre es für mich nicht möglich gewesen diese Dissertation fertig zu stellen. An dieser Stelle ist es angebracht Worte des Lobes an diese Persönlichkeiten zu richten.

Bei Herrn Prof. Dr. Micheal Kracht möchte ich mich nicht nur wegen seiner Rolle als Doktorvater und der damit verbundenen Überlassung des Abhandlungsthemas, sondern auch wegen der konstruktiven Kritik und der steten Hilfsbereitschaft bedanken. Gerade in seiner Rolle als Mentor hat er mich mit seiner unschätzbaren Erfahrung und seinem Wissen immer unterstützt und mir die Möglichkeit gegeben mich akademisch bestmöglich zu entwickeln.

Ich danke für die freundliche Übernahme des Koreferates.

Ganz besonders möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Axel Weber bedanken. Er hat es verstanden mich auch in den oft endlos erscheinenden Phasen der Arbeit zu motivieren und zu leiten. Von seiner nicht ermüden wollenden Betreuung und Anleitung konnte ich sehr profitieren.

Allen Helfern und Mitarbeitern des Rudolf-Buchheim Institut für Pharmakologie, Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen gebührt viel Dank.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, meinen Eltern Bodo und Heidrun Bleymehl und meiner Schwester Dr. Katherin Bleymehl. Die stets dafür sorgen, dass ich meine Träume in die Tat umsetzen kann und mich dabei immer bedingungslos unterstützen. Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Ehefrau Daniela Bleymehl-Sämmler für ihre immerwährende Unterstützung bedanken. Erst dadurch wurde es mir ermöglicht dieses Promotionsvorhaben in die Tat umzusetzen. Den Kindern Marlon und Alicia, die uns immer zeigen, was im Leben wirklich zählt.

Vielen Dank!