

Aus dem Institut für Anatomie und Zellbiologie
der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Direktorin: Prof. Dr. med. Heike Kielstein

Zum Einfluss Adipositas-assoziiierter Veränderungen
Natürlicher Killerzellen auf die Entstehung des kolorektalen Karzinoms

HABILITATIONSSCHRIFT

zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. rer. troph., rer. medic. habil.

für das Fachgebiet Anatomie

kumulative Schrift

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Dr. troph. Ina Bähr

geboren am 23.09.1982 in Schkeuditz

Gutachter/in: Prof. Dr. Anja Bräuer, Oldenburg

Prof. Dr. Hermann-Josef Rothkötter, Magdeburg

Lehrprobe am: 30.11.2022

Datum der Verteidigung: 17.01.2023

Referat

Adipositas stellt weltweit ein bedeutendes medizinisches und gesundheitspolitisches Problem dar. Fettleibigkeit gilt als einer der wesentlichen Risikofaktoren für das gehäufte Auftreten kolorektaler Karzinome und eine erhöhte Tumor-assoziierte Mortalität. Die Ursachen für das erhöhte Kolonkarzinomrisiko bei Adipositas sind derzeit noch weitgehend unklar. Frühere Studien konnten zeigen, dass die Funktionalität von Natürlichen Killer (NK)-Zellen bei adipösen Individuen beeinträchtigt ist. Ziel dieser Arbeit war es, Adipositas-assoziierte Dysfunktionen von NK-Zellen näher zu charakterisieren und die Bedeutung für das erhöhte Kolonkarzinomrisiko zu untersuchen. Mittels durchflusszytometrischer und molekularbiologischer Analysen wurden Veränderungen in Frequenz, Verteilung von Subpopulationen und Phänotyp von NK-Zellen adipöser Blutspender im Blut und adipöser Mäuse in Blut, Milz, Leber und Fettgewebe aufgezeigt. Durch Zytotoxizitätsmessungen an murinen und humanen NK-Zellen wurde bei Adipositas eine deutlich reduzierte lytische Aktivität gegenüber Kolonkarzinomzellen nachgewiesen. Ergebnisse von Tierversuchen an Wistar-Ratten mit Induktion von kolorektalen Tumoren durch das Karzinogen Azoxymethan konnten zeigen, dass bei Diät-induziert adipösen Versuchstieren Störungen von NK-Zellen mit einem erhöhten Kolontumorrisiko assoziiert waren. Zudem wurden Tierversuche an verschiedenen Mausstämmen mit restriktivem Fütterungsregime und eine Interventionsstudie an adipösen Probanden mit Erhöhung der körperlichen Aktivität und Ernährungsberatung durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen, dass bereits eine moderate Reduktion der Nahrungsaufnahme sowie ein moderates Bewegungsprogramm kombiniert mit Ernährungsumstellung die Adipositas-assoziierten Störungen von NK-Zellen teilweise aufheben können. Die Daten der vorliegenden Arbeit ergänzen bisherige Befunde zum Einfluss von Adipositas und Gewichtsreduktion auf NK-Zellen und zeigen erstmals einen Zusammenhang zwischen NK-Zell-Dysfunktionen und dem erhöhten Kolonkarzinomrisiko bei Fettleibigkeit auf.

Bibliographische Beschreibung

Bähr, Ina: Zum Einfluss Adipositas-assoziiierter Veränderungen Natürlicher Killerzellen auf die Entstehung des kolorektalen Karzinoms, Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Habil., 172 Seiten, 2023.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	IV
1 Einleitung	1
1.1 Prävalenz und Folgeerkrankungen von Adipositas	1
1.2 Fettgewebe und Inflammation	2
1.3 Kolorektales Karzinom und Adipositas	3
1.4 Natürliche Killer (NK)-Zellen	5
1.4.1 <i>NK-Zell-Subpopulationen bei Mensch und Nagern</i>	6
1.4.2 <i>Die Regulierung von NK-Zellen</i>	7
1.4.3 <i>NK-Zell-Rezeptoren</i>	9
1.4.4 <i>Mechanismen der Effektorfunktion von NK-Zellen</i>	12
1.5 Veränderungen Natürlicher Killerzellen bei Adipositas.....	15
1.5.1 <i>Wirkung von Adipozytokinen auf NK-Zellen</i>	15
1.5.2 <i>Einfluss von Adipositas auf NK-Zellen in vivo</i>	15
1.6 Fragestellung.....	17
2 Ergebnisse aus Originalarbeiten	18
2.1 Einfluss von Adipositas auf NK-Zell-Subpopulationen und Expression funktioneller NK-Zell-Marker bei der Maus	19
2.2 Einfluss von Übergewicht und Adipositas auf NK-Zell-Subpopulationen und Expression funktioneller NK-Zell-Marker beim Menschen	20
2.3 Untersuchungen zur Zytotoxizität muriner und humaner NK-Zellen gegen Kolonkarzinomzellen	21
2.4 Bedeutung Adipositas-assoziiierter Veränderung von NK-Zellen für das erhöhte Kolonkarzinomrisiko bei Fettleibigkeit.....	23
2.5 Reaktivierung gestörter NK-Zellen durch Nahrungsrestriktion und Gewichtsreduktion	25
3 Diskussion und Ausblick	28
3.1 Adipositas-assoziierte Veränderungen von NK-Zellen bei der Maus	28
3.2 Adipositas-assoziierte Veränderungen von NK-Zellen beim Menschen.....	30
3.3 Mechanismen der Vermittlung der NK-Zell-Dysfunktion bei Adipositas.....	33
3.4 Einfluss Adipositas-assoziiierter NK-Zell-Dysfunktion auf Entstehung und Wachstum von Kolonkarzinomen	35
3.5 Einfluss von Nahrungsrestriktion und Gewichtsreduktion auf die Reaktivierung dysfunktionaler NK-Zellen.....	39
3.6 Schlussfolgerungen	43

4	Literaturverzeichnis	44
5	Thesen.....	55
6	Anhang.....	VI
	Eigene Originalarbeiten	VI
	Selbstständigkeitserklärung	VII
	Erklärung über frühere Habilitationsversuche	VII
	Lebenslauf	VIII
	Danksagung	IX

Abkürzungsverzeichnis

ADCC	<i>Antibody-dependent cellular cytotoxicity</i> , Antikörper-abhängige zelluläre Zytotoxizität
AOM	Azoxymethan
Blimp-1	<i>B lymphocyte-induced maturation protein-1</i> , B-Lymphozyten-induziertes Reifungsprotein-1
BMI	<i>Body Mass Index</i>
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CRP	C-reaktives Protein
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DNAM	<i>DNAX accessory molecule</i>
EOMES	Eomesodermin
FAP	Familiäre adenomatöse Poliposis
FasL	Fas-Ligand
Fc	<i>Fragment crystallisable</i> , kristallisierbares Fragment
GM-CSF	<i>Granulocyte macrophage colony-stimulating factor</i> , Granulozyten-Monozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
HFD	Hochfettdiät
HLA	<i>Human leukocyte antigen</i> , humanes Leukozytenantigen
HNPCC	<i>hereditary non-polyposis colorectal cancer</i> , hereditäres nicht-polypöses kolorektales Karzinom
IFN- γ	Interferon- γ
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
ILC	<i>Innate lymphoid cell</i> , angeborene lymphoide Zelle
ITAM	Immunrezeptor Tyrosin-basierendes aktivierendes Motiv
ITIM	Immunrezeptor Tyrosin-basierendes inhibierendes Motiv
KIRs	Killerzell-Immunglobulin-ähnliche Rezeptoren

KLR	Killer-Zell lektinähnlicher Rezeptor
MACC1	Metastasis-associated in colon cancer
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i> , Haupthistokompatibilitätskomplex
MIP	<i>Macrophage inflammatory protein</i> , Makrophagen-inflammatorisches Protein
MIC	<i>MHC-I chain related protein</i>
MLU	Martin-Luther-Universität
mRNA	<i>Messenger ribonucleic acid</i> , messenger Ribonukleinsäure
NCR	<i>Natural cytotoxicity receptor</i> , natürlicher zytotoxischer Rezeptor
NFD	Normalfettdiät
NK-Zelle	Natürliche Killer-Zelle
NKG2	Natürliche Killerzell-Gruppe 2-Rezeptoren
NKT-Zelle	Natürliche Killer-T-Zelle
PBMC	<i>Peripheral blood mononuclear cell</i> , mononukleäre Zellen des peripheren Blutes
PD-1	<i>Programmed cell death receptor-1</i> , programmierter Todesrezeptor-1
REA	<i>Retinoic acid</i> , Retinsäure
Siglec	<i>Sialic acid binding immunoglobulin-like lectin</i> , Sialinsäure-bindendes Immunoglobulin-ähnliches Lektin
T-bet	T-Zell-assoziiertes Transkriptionsfaktor
TIGIT	<i>T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains</i> , T-Zell-Immurrezeptor mit Immunglobulin- und ITIM-Domänen
TNF	Tumornekrosefaktor
TRAIL	<i>Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand</i> , Tumornekrosefaktor verwandter Apoptose-induzierender Ligand
ULBP	UL16-Bindungsproteine
WHO	<i>World Health Organization</i> , Weltgesundheitsorganisation

1 Einleitung

1.1 Prävalenz und Folgeerkrankungen von Adipositas

Übergewicht und Adipositas werden als eine über das Normalmaß hinausgehende Vermehrung des Körperfettes definiert. Die Klassifizierung des Körpergewichtes wird hauptsächlich anhand des Body Mass Index (BMI) definiert, welcher aus dem Verhältnis des Körpergewichtes in Kilogramm zur Körpergröße in Metern zum Quadrat gebildet wird. Entsprechend der Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation (WHO) gelten Erwachsene mit einem BMI im Bereich zwischen $18,5 \text{ kg/m}^2$ und $24,9 \text{ kg/m}^2$ als normalgewichtig, Übergewicht bzw. Prä-Adipositas wird durch einen BMI von 25 bis $29,9 \text{ kg/m}^2$ definiert und ab einem BMI von 30 kg/m^2 besteht Adipositas (WHO 2020). Zusätzlich zum BMI werden weitere Methoden und Techniken, wie die Bestimmung des Bauchumfangs, der *Waist-to-Hip-Ratio* (Taille-Hüft-Quotienten) und die Messung der Körperzusammensetzung mittels bioelektrischer Impedanzanalyse zur Beurteilung der Körperfettmasse verwendet.

Die weltweite Prävalenz für Übergewicht und Adipositas nimmt sowohl in Industrienationen als auch in Entwicklungsländern nach wie vor stetig zu; die Anzahl der fettleibigen Menschen hat sich in den vergangenen 40 Jahren nahezu verdreifacht. Nach Schätzungen der WHO waren im Jahr 2016 weltweit 1,9 Milliarden Menschen übergewichtig; davon gelten 650 Millionen Menschen bereits als adipös (WHO 2020). Besonders bei Kindern und Jugendlichen unter 19 Jahren kam es zu einer dramatischen Zunahme der Prävalenz an Übergewicht und Adipositas von 4 % im Jahr 1975 auf 18 % im Jahr 2016 (WHO 2020). In Deutschland sind etwa zwei Drittel der Männer (67 %) und die Hälfte der Frauen (53 %) übergewichtig; fast ein Viertel aller Erwachsenen (23 bis 24 %) gelten sogar als adipös (Robert Koch Institut 2015).

Adipositas-assoziierte Erkrankungen stellen ein enormes medizinisches, soziales und gesundheitspolitisches Problem dar. Fettleibigkeit ist ein hoher Risikofaktor für die Entwicklung von Typ2-Diabetes, kardiovaskulärer, muskuloskelettaler und degenerativer Erkrankungen und gilt als eine der Hauptursachen für erhöhte Morbidität und Mortalität (Elsayed et al. 2008, Collaboration 2011, Afshin et al. 2017, Mitsuhashi et al. 2017). Darüber hinaus ist Anfälligkeit für Infektionskrankheiten sowie die Prävalenz für die Entstehung verschiedener Tumorerkrankungen, wie Leber-, Prostata-, Mamma-, Endometrium-, Nieren- und Kolonkarzinom, bei Adipositas deutlich erhöht (Louie et al. 2011, Lauby-Secretan et al. 2016). Es wird geschätzt, dass Übergewicht und Adipositas etwa 20 % aller Krebserkrankungen verursachen

und Fettleibigkeit Ursache für bis zu 20 % der Tumor-assoziierten Mortalität darstellt (Calle et al. 2003, Wolin et al. 2010).

1.2 Fettgewebe und Inflammation

Bei Säugetieren werden hauptsächlich zwei Arten von Fettgewebe unterschieden – das braune Fettgewebe und das weiße Fettgewebe. Das in geringeren Mengen vorkommende braune plurivakuoläre Fettgewebe dient primär der Thermoregulation bei Neugeborenen und ist beim erwachsenen Menschen in rudimentärer Form an vereinzelt Stellen in zervikalen, supraclaviculären, axillaren und paravertebralen Regionen vorhanden (Gesta et al. 2007, Nedergaard et al. 2007). Das univakuoläre weiße Fettgewebe macht den weitaus größten Fettgewebsanteil im Körper aus und kann in subkutanes und viszerales Fett unterschieden werden. Subkutanes Fettgewebe nimmt primär zirkulierende, freie Fettsäuren aus dem Blut auf und speichert diese; ist jedoch metabolisch weniger aktiv. Demgegenüber ist viszerales Fettgewebe neben seiner Funktion als Speicherorgan metabolisch und immunologisch aktiver als subkutanes Fettgewebe (Ibrahim 2010). Weißes Fettgewebe besteht vor allem aus Adipozyten, beinhaltet aber auch Fibroblasten, Endothelzellen und eine Vielzahl von Immunzellen. Als metabolisch und immunologisch aktives Organ synthetisiert das weiße Fettgewebe verschiedene Fettgewebsmediatoren, sogenannte Adipozytokine, wie Leptin, Adiponektin, Resistin, Visfatin, Interleukin (IL)-6 und Östrogene (Francisco et al. 2018). Bei Normalgewichtigen sind Adipozytokine an der Regulation von Hunger- und Sättigungsgefühl, Immunsystem, Insulinsensitivität, Angiogenese und Blutdruck beteiligt (Vázquez-Vela et al. 2008). Eine exzessive Fettakkumulation bei Übergewicht und Adipositas führt unter anderem zu vermehrtem Zellstress in Adipozyten, Gewebehypoxie und Infiltration pro-inflammatorischer Immunzellen, was mit einer Dysregulation der Adipozytokinsekretion sowie der vermehrten Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine, wie IL-6 und Tumornekrosefaktor (TNF)- α , einhergeht (Trayhurn 2005). Diese durch den veränderten Stoffwechsel ausgelöste chronische, geringgradige, lokale und systemische Entzündungsreaktion bei Adipositas wird als Metaflammation bezeichnet. Marker zur Quantifizierung des inflammatorischen Status sind neben der Konzentration pro-inflammatorischer Zytokine auch die Anzahl der Leukozyten sowie die Konzentrationen des Akute-Phase-Proteins C-reaktives Protein (CRP) und anti-inflammatorischer Östrogene (Miller et al. 2012, Reddy et al. 2019). Das Inflammationsgeschehen bei Fettleibigkeit trägt maßgeblich zur Entstehung des metabolischen Syndroms und anderer Adipositas-assoziiierter Folgeerkrankungen bei (Hotamisligil 2006).

Neben den systemischen Auswirkungen ist bekannt, dass die geringgradige, chronische Inflammation bei Übergewicht und Adipositas auch direkt zu funktionellen Störungen verschiedener Immunzellen, wie Makrophagen, B- und T-Lymphozyten und Natürlichen Killer (NK)-Zellen führt (Gerriets und MacIver 2014, Castoldi et al. 2015, Kosaraju et al. 2017, Bähr et al. 2020).

1.3 Kolorektales Karzinom und Adipositas

Das kolorektale Karzinom ist weltweit die dritthäufigste Tumorerkrankung bei Männern sowie die zweithäufigste Tumorerkrankung bei Frauen; etwa 10 % aller Krebserkrankungen sind kolorektale Karzinome (Bray et al. 2018). Im Jahr 2018 gab es weltweit 1,8 Millionen Neuerkrankungen und über 880.000 Todesfälle durch kolorektale Karzinome (Bray et al. 2018). Auch in Deutschland ist das kolorektale Karzinom mit jährlich ca. 59.000 Neuerkrankungen und über 23.000 Todesfällen eine der häufigsten malignen Tumorerkrankungen (Robert-Koch-Institut 2019).

Risikofaktoren für die Entstehung von Kolonkarzinomen sind zum einen genetische Syndrome, wie die familiäre adenomatöse Polyposis (FAP) oder das nicht-polypöse kolorektale Karzinom (*hereditary non-polyposis colorectal cancer*, HNPCC), aber auch chronisch-entzündliche Darmerkrankungen, wie Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa. In über 70 % der Fälle entstehen kolorektale Karzinome jedoch sporadisch aus Vorläuferläsionen, sog. intraepithelialen Neoplasien (Adenomen). Adenome des Kolons und Rektums sind definiert als benigne Neoplasien mit dysplastischen Veränderungen, die auf die *Tunica mucosa* der Darmwand begrenzt sind. Diese werden entsprechend der zytologischen und architektonischen Veränderungen in intraepitheliale Neoplasie geringen und hohen Grades (*high- und low-grade-Dysplasien*) eingeteilt (Nagtegaal et al. 2020). Hochgradige kolorektale Adenome können sich durch sukzessive Mutationen mit Aktivierung von Onkogenen und Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen zu Adenokarzinomen entwickeln. Dieses Modell zur Tumorentstehung des kolorektalen Karzinoms aus gutartigen Vorstufen wird als Adenom-Karzinom-Sequenz beschrieben (Leslie et al. 2002). Adenokarzinome von Kolon und Rektum sind maligne Tumoren, die mindestens durch die Invasion in die *Tunica submucosa* definiert sind und meist aus dem Drüsengewebe des Darmepithels entstehen (Nagtegaal et al. 2020).

Risikofaktoren für das sporadische Entstehen kolorektaler Karzinome sind beeinflussbare Faktoren des Lebensstils, wie körperliche Inaktivität, Adipositas, Alkoholkonsum, Rauchen sowie eine fettreiche, ballaststoffarme Ernährung und hoher Konsum von rotem Fleisch

(Huxley et al. 2009). Das Meiden dieser Risikofaktoren trägt damit maßgeblich zur Reduzierung des Erkrankungsrisikos bei.

Das mittlere Erkrankungsalter beträgt etwa 70 Jahre; die Inzidenz für das kolorektale Karzinom steigt insbesondere ab einem Alter von 50 Jahren deutlich an (Birkner 2003, Winawer et al. 2003). Da eine frühzeitige Diagnose entscheidend zu einer Verbesserung der Heilungschancen und Reduzierung der Mortalität beiträgt, sind Darmkrebsvorsorgeuntersuchungen, wie fäkale okkulte Bluttests und Koloskopien, in Deutschland Teil des gesetzlichen Früherkennungsprogrammes.

Trotz Ausweitung der Vorsorgeuntersuchungen werden kolorektale Karzinome bei etwa einem Viertel der Patienten erst in fortgeschrittenem Stadium mit regionaler oder Fernmetastasierung erkannt. Die Ausbreitung kolorektaler Karzinome in andere Organe kann *per continuitatem*, lymphogen oder hämatogen erfolgen. Metastasen des kolorektalen Karzinoms finden sich am häufigsten in der Leber, gefolgt von der Lunge und seltener in Gehirn, Peritoneum und dem skelettalen System (Leitlinienprogramm Onkologie 2019). Die Prognose für Krankheitsverlauf und Überleben der Patienten hängt maßgeblich von der Metastasierung ab (Stein und Schlag 2007, Amilca-Seba et al. 2021). Bei etwa 30 % der Patienten entstehen auch nach kurativer Therapie Metastasen oder Rezidive, wobei die Therapieoptionen in diesem Fall limitiert sind und die Überlebensprognose deutlich reduziert wird (Stein und Schlag 2007). Daher ist für eine Optimierung der Therapieoptionen eine präzise Prognose der Metastasierungswahrscheinlichkeit zwingend erforderlich. Aktuell basiert die Prognose zur Metastasierung hauptsächlich auch auf einem postoperativen histopathologischen Staging, bildgebenden Verfahren sowie der Bestimmung von Tumormarkern im Serum, wie CEA, CA 19-9 und CA125 (Leitlinienprogramm Onkologie 2019). Diese Kriterien haben sich als unzureichend für eine möglichst genaue Differenzierung von Risikogruppen und die Vorhersage des Metastasierungsrisikos herausgestellt. Daher wurden in der Vergangenheit zusätzlich molekulare Marker, wie Onkogene, Tumorsuppressorgene oder Proliferationsmarker hinsichtlich ihrer potentiellen Relevanz als Prognosemarker analysiert (Stein und Schlag 2007, Cao und Wang 2021). Stein *et al.* konnten mittels genomweiter Expressionsstudien in physiologischem Kolongewebe, Primärtumoren und Metastasen kolorektaler Karzinome das Gen MACC (*metastasis-associated in colon cancer*) neu identifizieren (Stein et al. 2009). MACC1 beeinflusst die Proliferation, Migration, Invasion und Ausbreitung von Tumorzellen und verstärkt damit Wachstum und Invasion von Tumoren (Li et al. 2015, Radhakrishnan et al. 2018). MACC1 hat sich inzwischen als Tumorstadien-unabhängiger und aussagekräftiger

molekularer Marker für die Prognose von Metastasierungsverhalten und Überlebensrate bei Patienten mit kolorektalem Karzinom erwiesen (Stein et al. 2012, Koelzer et al. 2015).

Adipositas gilt als einer der wesentlichen Risikofaktoren für das gehäufte Auftreten von kolorektalen Karzinomen und die erhöhte Tumor-assoziierte Mortalität (Calle et al. 2003, Larsson und Wolk 2007, Renehan et al. 2008). Beobachtungsstudien haben gezeigt, dass sich das Risiko an Darmkrebs zu erkranken mit einem Anstieg des BMI von 5 kg/m² um 18 % erhöht (Ning et al. 2010). Die Ursachen für das erhöhte Risiko bei Adipositas an kolorektalem Karzinom zu erkranken sind Gegenstand aktueller Forschungsarbeiten. Verschiedene pathophysiologische Mechanismen für das erhöhte Kolontumorrisiko bei Adipositas werden diskutiert. Neben veränderten Adipozytokinkonzentrationen, erhöhter Sekretion von Wachstumsfaktoren und Steroidhormonen, oxidativem Stress und verändertem Mikrobiom kann ein chronisches geringgradiges Entzündungsgeschehen die Tumorentstehung bei Übergewicht und Adipositas begünstigen (Berger 2014, Ackerman et al. 2017, Himbert et al. 2017). Zudem kann eine Adipositas-induzierte funktionelle Störung von Immunzellen, wie T-Zellen und NK-Zellen, Einfluss auf die Entstehung von kolorektalen Karzinomen nehmen.

1.4 Natürliche Killer (NK)-Zellen

NK-Zellen sind große granuläre Lymphozyten und machen mit 10-15 % die drittgrößte Klasse der im Blut zirkulierenden Lymphozyten aus. Als integrale Komponente des angeborenen Immunsystems vermitteln NK-Zellen eine rasche Eliminierung virusinfizierter oder maligne transformierter Zellen durch eine nichtantigenspezifische Erkennung und ohne vorangegangene spezifische Immunisierung (Vivier et al. 2011). NK-Zellen werden als eine Gruppe der angeborenen lymphoiden Zellen (*innate lymphoid cells*, ILCs) klassifiziert (Sun et al. 2019). NK-Zellen entstehen und reifen hauptsächlich im Knochenmark und migrieren in die Blutbahn, gelangen aber auch in periphere Organe, wie Milz, Lymphknoten, Leber, Lunge, Uterus und den Gastrointestinaltrakt (Abel et al. 2018). Dabei können die Phänotypen, Transkriptionsfaktoren und Zytokinsekretionsmuster zwischen NK-Zellen im Blut und gewebebeständigen NK-Zellen variieren (Björkström et al. 2016). Auch wenn NK-Zellen typischerweise als Zellen des angeborenen Immunsystems beschrieben werden, zeigen sie vor allem durch ihre Gedächtnisfunktion auch Eigenschaften des erworbenen Immunsystems (Peng und Tian 2017).

1.4.1 NK-Zell-Subpopulationen bei Mensch und Nagern

Humane NK-Zellen sind durch die Oberflächenexpression des Antigens CD56 sowie das Fehlen des T-Zell-Markers CD3 gekennzeichnet. Entsprechend der Dichte der Oberflächenexpression von CD56 und des Fc γ -Rezeptors CD16 auf der Oberfläche von NK-Zellen können NK-Zell-Subpopulationen definiert werden. Klassischerweise werden zwei NK-Zell-Subtypen unterschieden: CD56^{dim}/CD16^{bright} und CD56^{bright}/CD16^{dim/neg}-NK-Zellen. CD56^{dim}/CD16^{bright}-NK-Zellen kommen hauptsächlich in Blut und Milz vor, machen mit etwa 90 % die Mehrheit aller NK-Zellen aus und sind hauptsächlich für die zytotoxische Aktivität verantwortlich, produzieren jedoch weniger Zytokine. Die CD56^{bright}/CD16^{dim/neg}-NK-Zell-Subpopulation kommt vor allen in Tonsillen und Lymphknoten vor und macht etwa 10 % aller NK-Zellen aus. CD56^{bright}/CD16^{dim/neg}-NK-Zellen produzieren hauptsächlich immunregulatorische Zytokine, wie Interferon (IFN)- γ , TNF- α und IL-10 und interagieren so mit anderen Immunzellen, können aber nach vorheriger Aktivierung auch zytotoxische Eigenschaften ausbilden (Cooper et al. 2001, Fehniger et al. 2003, Takahashi et al. 2007, Fauriat et al. 2010, Michel et al. 2016, Wagner et al. 2017).

Für die Entwicklung der beiden humanen NK-Subpopulationen werden zwei verschiedene Modelle diskutiert: Einerseits wird vermutet, dass sich aus einer gemeinsamen Vorläuferzelle entweder die CD56^{dim}/CD16^{bright}- oder die CD56^{bright}/CD16^{dim/neg}-NK-Zellen entwickeln und diese sich in Abhängigkeit vom umgebenden Mikromilieu in die jeweils andere Subpopulation umwandeln können (Farag und Caligiuri 2006). Andererseits wird beschrieben, dass CD56^{bright}/CD16^{dim/neg}-NK-Zellen unreife Vorläufer für die terminal differenzierten CD56^{dim}/CD16^{bright}-NK-Zellen darstellen (Chan et al. 2007).

Da bei den meisten Nagern das Adhäsionsmolekül CD56 nicht exprimiert wird, werden bei Ratten und Mäusen anderweitige Oberflächenmarker zur Identifikation von NK-Zellen und NK-Zell-Subpopulationen herangezogen.

Bei der Ratte wurden basierend auf der Expression des Ly49s3- und NKR-1P1B-Rezeptors zwei NK-Zell-Subtypen charakterisiert (Kveberg et al. 2006, Inngjerdigen et al. 2011). Beide NK-Subpopulationen weisen sowohl immunregulatorische als auch zytotoxische Funktionen auf, unterscheiden sich jedoch im Expressionsprofil anderer Oberflächenrezeptoren und ihrer proliferativen Kapazität (Kveberg et al. 2010).

Murine NK-Zellen werden im Allgemeinen durch die Expression der Oberflächenmarker NKp46, CD49b (DX5) und CD161 (NK1.1) und das Fehlen des T-Zell-Markers CD3 identi-

fiziert (Walzer et al. 2007, Goh und Huntington 2017). Entsprechend der Oberflächenexpression von CD11b und CD27 können vier murine NK-Zell-Subtypen unterschieden werden: CD11b^{low}CD27^{low}, CD11b^{low}CD27^{high}, CD11b^{high}CD27^{high} und CD11b^{high}CD27^{low} (Hayakawa und Smyth 2006, Chiossone et al. 2009). Diese vier Subpopulationen entsprechen Reifestadien muriner NK-Zellen, wobei mit erhöhtem Reifegrad zunehmend auch die funktionellen Eigenschaften ausgebildet werden. CD11b^{high}CD27^{high}-NK-Zellen weisen gegenüber den übrigen murinen NK-Zell-Subtypen die höchste Zytokinproduktion und Zytotoxizität auf (Hayakawa und Smyth 2006, Chiossone et al. 2009).

1.4.2 Die Regulierung von NK-Zellen

NK-Zellen haben die Fähigkeit, gesunde körpereigene Zellen von virusinfizierten oder maligne transformierten Zellen zu unterscheiden. Der Schlüssel zu dieser Fähigkeit liegt in der erstmals von Ljunggren und Karre beschriebenen „*missing-self*“-Theorie (Ljunggren und Kärre 1990). Dieser Hypothese zufolge lysieren NK-Zellen jene Zielzellen, die auf ihrer Oberfläche keine oder veränderte *Major Histocompatibility Complex* Klasse I (MHC-I)-Moleküle exprimieren (beim Menschen genannt *Human Leukocyte Antigen*, HLA, Klasse I). Gesunde körpereigene Zellen entgehen der Lyse durch NK-Zellen durch Bindung von MHC-I-Molekülen an inhibierende Rezeptoren der NK-Zelle, wodurch hemmende Signale überwiegen. Bei virusinfizierten oder maligne entarteten Zellen wird die MHC-I-Expression herabreguliert oder strukturell verändert, was zur Aktivierung von NK-Zellen führt. NK-Zellen identifizieren ihre Zielzellen demnach am „fehlenden Selbst“ und nicht am „Fremd“. Die „*missing-self*“-Theorie wurde später um die „*induced-self*“-Hypothese erweitert, die beschreibt, dass neben dem Fehlen von MHC-I-Molekülen zusätzlich Liganden für aktivierende Rezeptoren auf der Zielzelloberfläche exprimiert werden müssen, um diese zu eliminieren (Lanier et al. 1997, Vivier et al. 2012). Eine erhöhte Expression aktivierender Liganden auf infizierten oder maligne entarteten Zielzellen kann zudem dazu führen, dass inhibierende Signale übergangen werden und somit NK-Zellen trotz MHC-I-Expression eine Zielzellyse induzieren (Watzl 2003). Somit wird die Effektorfunktion von NK-Zellen durch ein dynamisches Gleichgewicht aktivierender und inhibierender Signale reguliert. Das Erkennen von Zielzellen durch NK-Zellen, basierend auf der „*missing-self*“- und der „*induced-self*“-Hypothesen, ist in Abbildung 1 dargestellt.

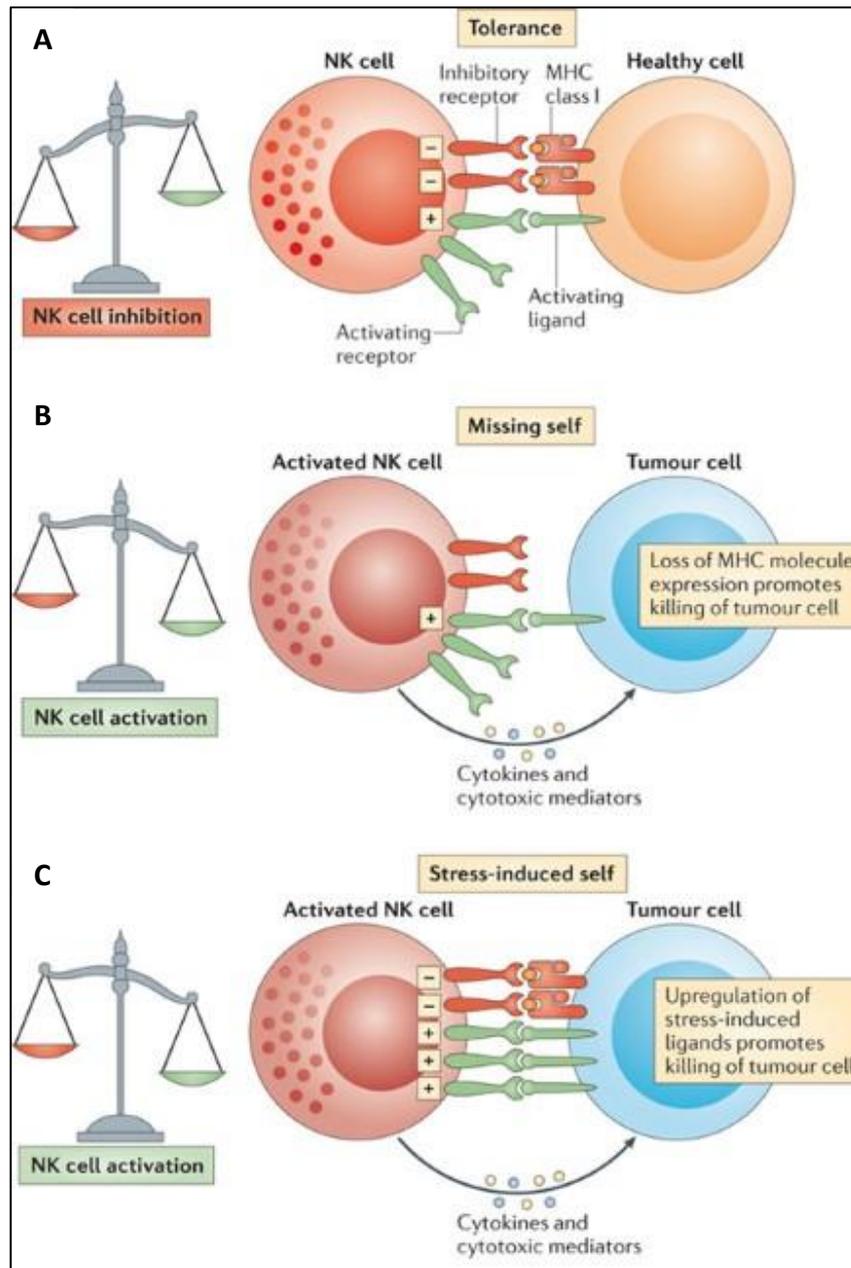


Abbildung 1: Regulierung der Effektorfunktion von Natürlichen Killer (NK)-Zellen. Die Effektorfunktion von NK-Zellen wird durch ein dynamisches Gleichgewicht aktivierender und inhibierender Signale reguliert. (A) NK-Zellen tolerieren Zielzellen, die eine geringe Expressionsdichte aktivierender Liganden aufweisen und auf ihrer Oberfläche *Major Histocompatibility Complex* Klasse I (MHC-I)-Moleküle exprimieren, welche durch Bindung an inhibierende Rezeptoren hemmende Signale auslösen. (B) NK-Zellen eliminieren Zielzellen, die auf ihrer Oberfläche keine oder veränderte MHC-I-Moleküle exprimieren, was zu einem Überwiegen aktivierender Signale führt („missing-self“). (C) Eine Hochregulierung stressinduzierter aktivierender Liganden auf Zielzellen kann trotz MHC-I-Expression zu einer NK-Zell-vermittelten Zielzellyse führen („induced-self“), wenn aktivierende Signale überwiegen. Modifiziert nach Vivier et al., 2012.

1.4.3 NK-Zell-Rezeptoren

Die Aktivität von NK-Zellen wird über verschiedene aktivierende oder inhibierende NK-Zell-Oberflächenrezeptoren, aber auch Adhäsionsmoleküle und weitere funktionelle Proteine reguliert (Vivier et al. 2012).

Bei aktivierenden und inhibierenden NK-Zell-Rezeptoren werden drei Hauptklassen unterschieden: I. Killerzellen-immunglobulinähnliche Rezeptoren (KIRs) bzw. Ly49-Rezeptoren als deren murine funktionelle Homologe, II. natürliche zytotoxische Rezeptoren (*natural cytotoxicity receptors*, NCRs) und III. Rezeptoren der C-Typ-Lektin-Familie.

Killerzellen-immunglobulinähnliche Rezeptoren (KIRs) und Ly49-Rezeptoren

KIRs sind Typ-1-Transmembranproteine der Immunglobulin-Superfamilie, die an MHC-I-Moleküle vom Typ HLA-A, HLA-B und HLA-C binden. Sie zeichnen sich durch zwei (KIR2D) oder drei (KIR3D) extrazelluläre Domänen aus und können inhibierend oder aktivierend wirken. Dabei bestimmt die Länge der zytoplasmatischen Domäne die funktionelle Eigenschaft des KIRs. Eine lange (*long*, L) zytoplasmatische Domäne vermittelt durch die Anwesenheit von Immunrezeptor Tyrosin-basierender hemmender Motive (*Immunoreceptor tyrosin-based inhibitory motifs*, ITIMs) inhibierende Signale (KIR-2/3DL). Kurze (*short*, S) zytoplasmatische Domänen interagieren hingegen mit Adapterproteinen, welche über Immunrezeptor Tyrosin-basierende aktivierende Motive (*Immunoreceptor tyrosin-based activating motifs*, ITAMs) aktivierende Signale bewirken (KIR-2/3DS; Lanier 1998, Farag et al. 2002). Die Expression von KIRs ist auf den menschlichen Organismus beschränkt. Als funktionelles Homolog für die KIRs exprimieren Nagetiere Killer-Zell lektinähnlichen Rezeptoren (KLR), zu denen Ly49-Moleküle (KLRa) gehören (Inngjerdigen et al. 2011). Aktivierende und inhibierende Ly49-Rezeptoren sind Typ2-Transmembranproteine der C-Typ-Lektin-ähnlichen Rezeptoren und besitzen einen hohen genetischen Polymorphismus mit funktionellen Parallelen zu KIRs (Rahim et al. 2014). Ly49-Rezeptoren erkennen MHC-I-Moleküle; ihre inhibierende bzw. aktivierende Funktion wird wie bei den KIRs über das Fehlen oder die Expression von ITIMs in der zytoplasmatischen Domäne charakterisiert (Rahim et al. 2014).

Natürliche zytotoxische Rezeptoren (NCRs)

Beim Menschen sind drei NCRs bekannt, die überwiegend von NK-Zellen exprimiert werden: NKp46 (Ncr1; CD335), NKp44 (Ncr2; CD336) und NKp30 (Ncr3; CD337). Während die NCRs NKp30 und NKp46 konstitutiv auf allen ruhenden und aktivierten NK-Zellen exprimiert werden, kann der NKp44 nur auf Interleukin-aktivierten NK-Zellen nachgewiesen werden (Kruse et al. 2014, Mattiola et al. 2015). Bei allen NCR handelt es sich um aktivierende NK-Zell-Rezeptoren, welche positiv geladene Aminosäuren in ihrer transmembranen Domäne enthalten, die Interaktion mit den ITAM-enhaltenden Adaptermolekülen erlauben und somit aktivierende Signale übermitteln (Pazina et al. 2017). Damit spielen NCRs eine bedeutende Rolle bei der Elimination von virusinfizierten- und Tumorzellen. Auch wenn Interaktionen mit NCRs und Virusproteinen beschrieben wurden, ist über die Interaktion dieser Rezeptoren mit spezifischen Liganden insgesamt bislang wenig bekannt (Vitale et al. 1998, Tremblay-McLean et al. 2019). Während im menschlichen Organismus alle drei NCRs auf der Oberfläche von NK-Zellen exprimiert werden, wird auf murinen NK-Zellen lediglich der NKp46 exprimiert (Biassoni et al. 2003, Kruse et al. 2014).

Rezeptoren der C-Typ-Lektin-Familie

Zur Familie der C-Typ-Lektin-Rezeptoren gehören sowohl homodimere Natürliche Killerzell-Gruppe 2 (NKG2, *killer cell lectin-like*, Klr)-D-Rezeptoren als auch heterodimere Rezeptoren, welche aus einer CD94-Untereinheit und einem kovalent gebundenen C-Typ Lektin NKG2 besteht.

Liganden der heterodimeren CD94/NKG2-Rezeptoren sind nicht-klassische MHC-Ib-Moleküle, HLA-E beim Menschen und Qa-1 bei Mäusen (Braud et al. 1998, Vance et al. 1998). Während die CD94-Untereinheit beim Aufbau des Rezeptors konstant bleibt, können verschiedene NKG2-Untereinheiten (NKG2A, -C, -E und -F) exprimiert werden, über welche aktivierende oder inhibierende Signale auf die NK-Zelle vermittelt werden können. Diese Signale werden, wie auch bei den KIRs, durch die Länge der zytoplasmatischen Domäne, welche jeweils ITIMs oder ITAMs enthalten, mediiert. Während Heterodimere von CD94 und NKG2A inhibitorische Signale vermitteln, induzieren Heterodimere von CD94 und NKG2C, -E oder -F eine Aktivierung der NK-Zell-Funktionen (Borrego et al. 2006). Die NKG2F-Untereinheit wird ausschließlich beim Menschen exprimiert, während die Untereinheiten NKG2A, NKG2C,

NKG2E sowohl beim Menschen als auch bei der Maus vorkommen (Lanier 2005, Farag und Caligiuri 2006).

Bei dem homodimeren NKG2D-Rezeptor handelt es sich um einen aktivierenden NK-Zell-Rezeptor, welcher keine MHC-I-Moleküle bindet. Bekannte Liganden für den NKG2D sind die MHC-I-Ketten-assoziierten Proteine (MIC) A und MIC B und UL16-Bindungsproteine (ULBP) beim Menschen sowie Proteine der *Retinoic acid early transcript* (RAET) 1-Familie und das *Minor histocompatibility antigen* H-60 bei der Maus (Srivastava et al. 2003, Zingoni et al. 2018). NKG2D-Rezeptoren werden sowohl beim Menschen als auch bei Ratte und Maus auf der Oberfläche von NK-Zellen exprimiert (Houchins et al. 1991, Berg et al. 1998, Ho et al. 1998).

Weitere NK-Zell-spezifische Rezeptoren

Neben den bereits beschriebenen aktivierenden und inhibierenden Rezeptoren ist die NK-Zelle mit weiteren Rezeptoren ausgestattet, welche ihre funktionellen Eigenschaften regulieren. Dazu gehören Co-Rezeptoren, Adhäsionsmoleküle sowie Reifungs- und Differenzierungsmarker.

Weitere Rezeptoren mit aktivierender Wirkung auf die NK-Zell-Funktionen sind die Aktivierungs-assoziierten Rezeptoren CD25 und CD69 sowie die co-aktivierenden Rezeptoren 2B4 (CD244) und NKp80 (Bianchi et al. 2001, Vitale et al. 2001, Claus 2008).

Weitere inhibitorische NK-Zell-Rezeptoren sind der inhibitorische Rezeptor Sialinsäurebindendes Immunglobulin-ähnliches Lektin (Siglec)-7 sowie die co-inhibitorischen Rezeptoren CD94, *T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains* (T-Zell-Immunrezeptoren mit Immunglobulin- und ITIM-Domänen, TIGIT) und *programmed cell death receptors* (programmierte Todesrezeptoren, PD)-1 (Bianchi et al. 2001, He et al. 2017, Liu et al. 2017). Rezeptoren der NKPR1-Familie (CD161) können je nach Rezeptor-Subtyp aktivierende oder inhibierende Effekte auf NK-Zell-Funktionen medieren. Bei Mäusen werden fünf NKPR1-Rezeptoren exprimiert, die NK-Zellen aktivieren (NKPR1A, -C und -F) oder hemmen (NKPR1B und -G) können (Inngjerdigen et al. 2011). Demgegenüber ist beim Menschen bisher nur die Expression des inhibitorisch wirkenden NKPR1A bekannt (Rosen et al. 2005).

Die Oberflächenmarker CD2, CD62L und *DNAX accessory molecule* (DNAM)-1 fungieren bei murinen und humanen NK-Zellen als Adhäsionsmoleküle (Seth et al. 2009, Juelke et al. 2010, Comerci et al. 2012). CD62L, auch bekannt als L-Selektin, spielt eine bedeutende Rolle beim

Prozess der Migration und Infiltration von NK-Zellen aus dem Blut in verschiedene Gewebe (Chen et al. 2005, Juelke et al. 2010).

Eine Vielzahl intra- und extrazellulärer Marker kann zur Charakterisierung des Reifungs- und Differenzierungsstatus von NK-Zellen herangezogen werden. Beim Menschen gehören dazu neben CD16 und CD56 auch der Oberflächenmarker CD27, CD57, CD127 sowie die intrazellulären Marker Eomesodermin (EOMES), das B-Lymphozyten-induzierte Reifungsprotein-1 (*B lymphocyte-induced maturation protein-1*, Blimp-1) und der T-Zell-assoziierte Transkriptionsfaktor (T-bet) (Freud und Caligiuri 2006, Hayakawa und Smyth 2006, Kallies et al. 2011, Gordon et al. 2012, Nielsen et al. 2013). Bei Mäusen wird zudem auch der Oberflächenrezeptor KLRG1 als Differenzierungsmarker für NK-Zellen genutzt (Huntington et al. 2007).

Eine Übersicht zu funktionellen Gruppen humaner NK-Zell-Rezeptoren ist in Tabelle 1 dargestellt.

1.4.4 Mechanismen der Effektorfunktion von NK-Zellen

Um virusinfizierte oder Tumorzellen direkt zu eliminieren, stehen der NK-Zelle zwei Mechanismen zur Verfügung (Abbildung 2).

Zum einen basiert die zytolytische Aktivität der NK-Zellen auf der Exozytose zytotoxischer Granula, welche lytische Enzyme, wie Perforin und Granzyme enthalten. Bei Überwiegen aktivierender Signale werden diese zytotoxischen Granula zunächst durch Ausbildung einer immunologischen Synapse zwischen NK-Zelle und Zielzelle in Richtung der Bindungsstelle polarisiert und schließlich durch Degranulierung in die immunologische Synapse freigesetzt (Bryceson et al. 2006). Ein Marker für die Degranulierung ist CD107a, welcher sich auf der Innenseite der Granula befinden und bei Degranulierung an die Oberfläche der NK-Zellen gelangt (Alter et al. 2004). Die Freisetzung dieser lytischen Enzyme führt zur Apoptose der Zielzellen. Dieser Vorgang kann sowohl Antikörper-unabhängig oder nach Bindung eines Antikörpers an den Fc γ -Rezeptor (CD16) auf NK-Zellen erfolgen. Bei diesem Antikörper-abhängigen Prozess spricht man von Antikörper-abhängiger zellulärer Zytotoxizität (*antibody-dependent cellular cytotoxicity*, ADCC) (Smyth et al. 2005).

Zum anderen können NK-Zellen Zielzellen durch Interaktionen mit sogenannten Todesrezeptoren eliminieren. Dabei kommt es durch Bindung von Todesrezeptorliganden, wie Fas-Ligand, Tumornekrosefaktor verwandter Apoptose-induzierender Ligand (TRAIL) oder TNF- α der NK-Zelle an Todesrezeptoren, wie Fas-, TRAIL- oder TNF- α -Rezeptoren, der Zielzelle zur Apoptose von virusinfizierten oder maligne entarteten Zellen (Sutlu und Alici 2009).

Tabelle 1: Übersicht zu humanen NK-Zell-Rezeptoren

NK-Zell-Rezeptorgruppe	NK-Zell-Rezeptoren
Aktivierende Rezeptoren	KIR2DS4 (CD158i)
	NKP30 (CD337)
	NKP44 (CD336)
	NKp46 (CD335)
	NKG2C (CD159c)
	NKG2D
	NKG2E
Co-aktivierende Rezeptoren	2B4 (CD244)
	NKp80
Aktivierungs-assoziierte Rezeptoren	CD25
	CD69
Inhibierende Rezeptoren	KIR2DL1 (CD158a)
	KIR2DL2/DL3 (CD158b1/b2)
	KIR3DL1/DL2 (CD158e/k)
	NKG2A (CD159a)
	Siglec-7 (CD328)
	NKPR1A (CD161)
Co-inhibitorische Rezeptoren	CD94
	TIGIT
	PD-1 (CD279)
Adhäsionsmoleküle	CD2
	L-Selektin (CD62L)
	DNAM-1 (CD226)
Reifungs- und Differenzierungsmarker	CD27
	CD57
	CD127
	EOMES
	Blimp-1
	T-bet

Blimp-1, B lymphocyte-induced maturation protein-1; CD, cluster of differentiation; DNAM-1, DNAX accessory molecule-1; Eomes, Eomesodermin; NCR, natural cytotoxicity receptor; NKG, natural killer group; PD-1, programmed cell death receptor-1; Siglec-7, Sialic acid binding immunoglobulin-like lectin-7, T-bet, T-cell associated transcription factor; TIGIT, T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains.

Jüngste Daten zeigen, dass sich diese beiden Mechanismen der Zielzellzerstörung nicht gegenseitig ausschließen, sondern dass NK-Zellen im Verlauf der Immunantwort beim Abtöten mehrerer Zielzellen von der Granula-abhängigen auf die Todesrezeptor-vermittelten Zielzellyse umstellen können (Prager et al. 2019).

Neben ihrer direkten zytolytischen Wirkung können aktivierte NK-Zellen eine Vielzahl von Chemokinen und Zytokinen, wie TNF- α , IFN- γ oder Granulozyten-Monozyten-Kolonie-stimulierender Faktor (*granulocyte macrophage colony-stimulating factor*, GM-CSF), produzieren und damit andere Zellen des angeborenen oder erworbenen Immunsystems stimulieren (Farg und Caligiuri 2006, Stewart et al. 2006).

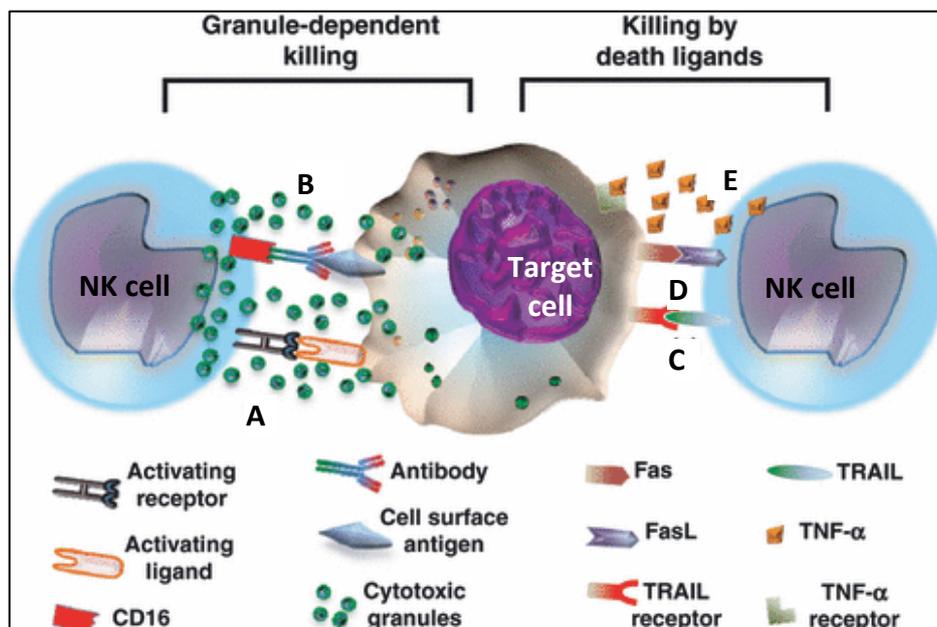


Abbildung 2: Mechanismen der Zytotoxizität von Natürlichen Killer (NK)-Zellen. Zytotoxische Effekte von NK-Zellen werden über zwei Mechanismen vermittelt. Bei der Granula-abhängigen Zytotoxizität binden aktivierende NK-Zell-Rezeptoren an aktivierende Liganden auf der Zielzelle (A) oder der Fc γ -Rezeptor CD16 bindet an Antikörper auf der Zielzelle (B). Dies führt zur Freisetzung von Granzymen und Perforin aus zytolytischen Granula und damit zur Lyse der Zielzellen. Bei der Todesliganden-induzierten Zytotoxizität wird die Apoptose der Zielzellen durch Bindung von Todesrezeptorliganden, wie Tumornekrosefaktor verwandter Apoptose-induzierender Ligand (TRAIL, C), Fas-Ligand (FasL, D) oder Tumornekrosefaktor (TNF)- α (E) der NK-Zelle an Todesrezeptoren, wie TRAIL-, Fas- oder TNF- α -Rezeptoren der Zielzelle vermittelt. Modifiziert nach Sutlu und Alici 2009.

1.5 Veränderungen Natürlicher Killerzellen bei Adipositas

1.5.1 Wirkung von Adipozytokinen auf NK-Zellen

Die vom Fettgewebe freigesetzten Adipozytokine wirken nicht nur lokal, sondern haben über systemische Effekte in verschiedensten Organen, wie Leber, Muskel und Gehirn, Einfluss auf Energiestoffwechsel, Reproduktion und kardiovaskuläre Funktionen (Cao 2014). Zudem können Zellen des Immunsystems, wie T- und B-Lymphozyten, Makrophagen und eosinophile Granulozyten, aber auch NK-Zellen, durch Adipozytokine beeinflusst werden (Cildir et al. 2013). Es ist bekannt, dass NK-Zellen von Mensch und Nagern Rezeptoren für Leptin, Adiponektin, IL-6 und Östrogene exprimieren und dass Adipozytokine Einfluss auf die Zytokinsekretion und zytolytische Aktivität von NK-Zellen nehmen (Bähr et al. 2020). Bei Untersuchungen zu Effekten von Adipozytokinen auf die Zytotoxizität wurden in der Vergangenheit hauptsächlich die humane myeloische Leukämie-Zelllinie K562 oder die murine Lymphomzelllinie YAC-1 als Zielzellen verwendet (Tian et al. 2002, Zhao et al. 2003, Elinav et al. 2006, Wrann et al. 2012, Lamas et al. 2013). Bislang gibt es nur unzureichend Daten zum Einfluss von Adipozytokinen auf die Zytolyse weiterer Tumorzellen, wie hepatozelluläre- oder Kolonkarzinomzellen, durch NK-Zellen.

1.5.2 Einfluss von Adipositas auf NK-Zellen in vivo

Zahlreiche Tierstudien zur Untersuchung Adipositas-assoziiierter Effekte auf NK-Zellen konnten zeigen, dass Fettleibigkeit sowohl bei Diät-induziert als auch bei genetisch-bedingt adipösen Nagern mit Veränderungen der NK-Zellzahl in Blut, Milz, Leber, Lunge und Fettgewebe einhergeht (Bähr et al. 2020). Zudem weisen NK-Zellen aus dem Fettgewebe adipöser Mäuse eine erhöhte Sekretion der pro-inflammatorischen Zytokine IL-6, IFN- γ und TNF- α auf, was zur Adipositas-assoziierten Fettgewebsinflammation beitragen könnte (Wensveen et al. 2015, Lee et al. 2016, O'Sullivan et al. 2016, Kaur et al. 2018). Untersuchungen zur NK-Zell-Zytotoxizität bei Ratte und Maus haben eine Reduktion der Zielzellyse durch NK-Zellen aus adipösen Versuchstieren im Vergleich zu NK-Zellen aus normalgewichtigen Versuchstieren nachgewiesen (Lamas et al. 2004, Lamas et al. 2015, Kaur et al. 2018).

Auch beim Menschen wurde gezeigt, dass Adipositas Einfluss auf die Anzahl der NK-Zellen in Blut, Leber, Kolon, Fettgewebe und Uterus nimmt (Bähr et al. 2020). Funktionelle Untersuchungen haben zudem eine verminderte Sekretion der Zytokine IFN- γ und

Makrophagen-inflammatorisches Protein (*macrophage inflammatory protein*, MIP)-1 β , eine reduzierte Perforin- und Granzym-B-Freisetzung sowie eine verminderte Degranulierung und Zytotoxizität von NK-Zellen aus adipösen Individuen nachgewiesen (O'Shea et al. 2010, Moulin et al. 2011, Tobin et al. 2017, Viel et al. 2017). Analysen des NK-Zell-Phänotyps bei Adipositas konnten zeigen, dass Fettleibigkeit mit einer verringerten Expression des aktivierenden Rezeptors NKp46 und des funktionellen Markers TRAIL auf NK-Zellen einhergeht (Laue et al. 2015, Viel et al. 2017). Diese Daten sprechen für eine gestörte Funktionalität der NK-Zellen unter dem Einfluss von Adipositas.

Interessanterweise konnten Studien an Diät-induziert adipösen Ratten zeigen, dass ein adoptiver Transfer von NK-Zellen aus adipösen in normalgewichtige Versuchstiere zu einer teilweisen Regeneration des gestörten NK-Zell-Phänotyps bei Adipositas führt. Diese Daten haben erstmals gezeigt, dass die NK-Zell-Funktionalität vom umgebenden metabolischen Milieu geprägt wird und Adipositas-assoziierte Störungen von NK-Zellen durch das Schaffen einer physiologischen metabolischen Umgebung entsprechend normalgewichtiger Individuen vermindert werden können (Lautenbach et al. 2009). Weiterhin konnten Studien an adipösen Patienten zeigen, dass eine Reduktion von Körpergewicht und Körperfettmasse nach bariatrischer Chirurgie mit einer erhöhten IL-12, IL-18 und IFN- γ -Sekretion durch NK-Zellen sowie zu einer gesteigerten zytolytischen NK-Zell-Aktivität gegenüber K562-Tumorzellen einhergeht (Moulin et al. 2011). Bislang nicht untersucht sind Effekte der Gewichtsreduktion durch Lebensstil-Interventionen, wie diätetische Restriktion der Energieaufnahme oder erhöhte sportliche Aktivität, auf den gestörten Phänotyp und die verminderte Funktionalität von NK-Zellen bei adipösen Individuen.

1.6 Fragestellung

Bisherige Untersuchungen konnten eindeutig nachweisen, dass Adipositas mit Störungen von Zellanzahl, Phänotyp, Zytokinsekretion und Zytotoxizität von NK-Zellen gegenüber virusinfizierten und Tumorzellen einhergeht. Bislang fehlen jedoch detaillierte Untersuchungen zu möglichen Veränderungen von NK-Zell-Subpopulationen und weiteren funktionellen NK-Zell-Markern, sowie Analysen zu Störungen beteiligter Tötungsmechanismen der NK-Zellen bei Adipositas. Ebenso blieb bislang unklar, welche Bedeutung die Adipositas-bedingte Dysfunktion der NK-Zellen für das erhöhte Risiko bezüglich der Entstehung und Metastasierung von Kolonkarzinomen bei Übergewicht und Fettleibigkeit hat.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte daher folgenden Fragen nachgegangen werden:

- Welchen Einfluss hat Adipositas auf die Verteilung von NK-Zell-Subpopulationen sowie auf die Expression funktioneller Marker, wie aktivitätsregulierende Rezeptoren, Adhäsionsmoleküle und Differenzierungsmarker, im murinen und humanen Organismus?
- Gibt es bereits bei Übergewicht Dysfunktionen der NK-Zellen oder wirken sich metabolische Veränderungen erst bei ausgeprägter Adipositas auf NK-Zell-Funktionen aus?
- Beeinflusst Adipositas die Zytotoxizität von murinen oder humanen NK-Zellen gegen Kolonkarzinomzellen? Welche Tötungsmechanismen der NK-Zelle werden durch Adipositas reguliert?
- Welche Bedeutung haben Adipositas-assoziierte Veränderung von NK-Zellen für das erhöhte Risiko für Entstehung und Wachstum von Kolonkarzinomen bei Fettleibigkeit?
- Können durch Adipositas gestörte NK-Zellen durch moderate Interventionen des Lebensstils, wie Kalorienrestriktion und erhöhte sportliche Aktivität, reaktiviert werden?

2 Ergebnisse aus Originalarbeiten

Den hier dargestellten Ergebnissen liegen folgende eigene Originalarbeiten zu Grunde, welche sich im Anhang befinden:

Jahn, J., Spielau, M.; Brandsch, C., Stangl, G. I., Delank, K.-S., **Bähr, I.**; Berreis, T., Wrann, C. D., Kielstein, H. (2015) Decreased NK cell functions in obesity can be re-activated by fat mass reduction. In: *Obesity* 23, 2233-41. DOI: 10.1002/oby.21229.

Bähr, I., Goritz, V., Doberstein, H., Hiller, G. G. R., Rosenstock, P., Jahn, J., Pörtner, O. J., Berreis, T., Müller, T., Spielmann, J., Kielstein, H. (2017) Diet-induced obesity is associated with an impaired NK cell function and an increased colon cancer incidence. In: *J Nutr Metab* 2017, 4297025. DOI: 10.1155/2017/4297025.

Bähr, I., Jahn, J., Zipprich, A., Pahlow, I., Spielmann, J., Kielstein, H. (2018) Impaired natural killer cell subset phenotypes in human obesity. In: *Immunol Res* 66:234-44. DOI: 10.1007/s12026-018-8989-4.

Bähr, I., Pörtner, O. J., Glaß, M., Doberstein, H., Goritz, V., Hiller, G. G. R., Spielmann, J., Kielstein, H. (2020) Characterization of natural killer cells in colorectal tumor tissue of rats fed a control diet or a high-fat diet. In: *Ann Anat* 233:151586. DOI: 10.1016/j.aanat.2020.151586.

Naujoks, W., Quandt, D., Hauffe, A., Kielstein, H., **Bähr, I.***, Spielmann, J.* (2020) Alterations of surface receptor expression and cytotoxicity of human NK cells and NK cell subsets in overweight and obese humans. *Front Immunol* 11:573200.

Spielmann, J., Naujoks, W., Emde, M., Allweyer, M., Kielstein, H., Quandt, D.*, **Bähr, I.*** (2020) High-fat diet and feeding regime impairs number, phenotype and cytotoxicity of natural killer cells in C57BL/6 mice. *Front Nutr* 7:585693.

Spielmann, J., Naujoks, W., Emde, M., Allweyer, M., Kielstein, H., Quandt, D.*, **Bähr, I.*** (2021) Effects of high-fat diet and restrictive feeding on natural killer cells in obesity-resistant BALB/c mice. *Front Nutr* 8:711824.

Bähr, I., Jaeschke, L., Nimptsch, K., Janke, J., Herrmann, P., Kobelt, D., Kielstein, H., Pischon, T., Stein, U. (2022) Obesity, colorectal cancer and MACC1 expression: A possible novel molecular association. *Int J Oncol* 60:17.

2.1 Einfluss von Adipositas auf NK-Zell-Subpopulationen und Expression funktioneller NK-Zell-Marker bei der Maus

Zur Charakterisierung Adipositas-assoziiierter Effekte auf die NK-Zellanzahl, die Verteilung von NK-Zell-Subpopulationen sowie auf die Expression funktioneller NK-Zell-Marker bei der Maus wurden männliche C57BL/6-Mäuse zur Induktion einer Adipositas für 17 Wochen *ad libitum* mit einer hochkalorischen Hochfettdiät (HFD) gefüttert. Die Kontrollgruppe erhielt normokalorisches Kontrollfutter mit normalem Fettgehalt (Normalfettdiät, NFD). Nach Ende der Fütterungszeit wiesen die Diät-induziert adipösen Mäuse signifikante Erhöhungen von Körpergewicht, viszeraler Fettmasse und Plasma-IL-6-Konzentrationen auf. Durchflusszytometrische Analysen von Immunzellpopulationen im Blut zeigten signifikante Veränderungen der Konzentrationen und Frequenzen der Leukozyten und Lymphozyten, insbesondere der Monozyten, Granulozyten, B-Lymphozyten und T-Zellen bei adipösen Mäusen im Vergleich zu normalgewichtigen Mäusen. Während die Anzahl der NK-Zellen im Blut nicht verändert war, wiesen adipöse Mäuse gegenüber der normalgewichtigen Kontrollgruppe eine signifikant verminderte Frequenz der NK-Zellen auf. In Untersuchungen zur Verteilung von NK-Zell-Subpopulationen konnte eine verringerte Frequenz reifer CD11b⁺CD27⁺-NK-Zellen bei adipösen Mäusen nachgewiesen werden. Analysen von NK-Zell-Oberflächenmarkern zeigten eine signifikant erhöhte Expression des Reifungsmarkers KLRG1 auf NK-Zellen fettleibiger Mäuse, welcher mit einer verringerten NK-Zell-Zytotoxizität assoziiert war. Zudem wurde bei adipösen Mäusen eine signifikant verringerte Expression des Reifungsmarkers CD127 auf NK-Zellen mit spezifischer Reduktion vor allem auf der CD11b⁺CD27⁺-NK-Zell-Subpopulation festgestellt. Neben Untersuchungen im Blut wurde die mRNA-Expression NK-Zell-spezifischer Marker im Fettgewebe der NFD- und HFD-gefütterten Mäuse analysiert. Die Ergebnisse zeigen signifikante Veränderungen aktivierender und inhibierender NK-Zell-Rezeptoren sowie des NKG2D-Rezeptorligands ULBP-1 im Fettgewebe adipöser Mäuse im Vergleich zu den normalgewichtigen Kontrolltieren (Spielmann et al. 2020b).

2.2 Einfluss von Übergewicht und Adipositas auf NK-Zell-Subpopulationen und Expression funktioneller NK-Zell-Marker beim Menschen

Zur Charakterisierung von Störungen von NK-Zellen bei Adipositas wurden zwei Studien durchgeführt. Zum einen wurden Blutproben normalgewichtiger ($\text{BMI} \leq 25 \text{ kg/m}^2$) und adipöser ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) männlicher Patienten in der Ambulanz der Klinik für Innere Medizin I der Martin-Luther-Universität (MLU) Halle-Wittenberg im Alter zwischen 50 und 70 Jahren untersucht. Ausschlusskriterien waren das Vorliegen von chronischen Infektionen, schweren endokrinen Störungen, immunsuppressiver Therapie oder bekannten malignen Tumorerkrankungen. Multiplex-Analysen der Blutproben zeigten, dass adipöse Patienten signifikant erhöhte Plasma-Leptinkonzentrationen aufwiesen. Durchflusszytometrische Untersuchungen konnten nachweisen, dass die Frequenz der Gesamt-NK-Zellen nicht verändert war, adipöse Patienten jedoch eine verringerte Frequenz der eher immunregulatorischen $\text{CD56}^{\text{bright}}$ -NK-Zell-Subpopulation und eine erhöhte Frequenz der eher zytotoxischen CD56^{dim} -NK-Zell-Subpopulation aufwiesen. Zudem war Adipositas mit einer erhöhten Frequenz an NK-Zellen mit Expression des aktivierenden NK-Zell-Rezeptors NKG2D und des intrazellulären Zytokins IFN- γ in $\text{CD56}^{\text{bright}}$ -NK-Zellen und einer verringerten Frequenz an NK-Zellen mit NKG2D- und IFN- γ -Expression in CD56^{dim} -NK-Zellen assoziiert. Darüber hinaus war bei adipösen Patienten die Frequenz der NK-Zellen mit Expression des Aktivierungs-assoziierten Rezeptors CD69 in der Gesamt-NK-Zell-Population signifikant verringert, was hauptsächlich auf eine Reduktion der Frequenz an CD69-exprimierenden CD56^{dim} -NK-Zellen zurückzuführen war (Bähr et al. 2018).

In einer zweiten Studie wurden *Buffy Coats* von Blutspendern der Einrichtung für Transfusionsmedizin des Universitätsklinikums Halle (Saale) für immunologische Analysen genutzt. Bei *Buffy Coats* handelt es sich um leukozyten- und thrombozytenreiche Abfallprodukte der Blutspende, die durch Zentrifugation des Vollblutes gewonnen werden. Es wurden ausschließlich *Buffy Coats* von männlichen Blutspendern über 18 Jahren verwendet. Ausschlusskriterien waren akute Infektionen, Immunsuppression sowie bekannte maligne Tumorerkrankungen. Für BMI-abhängige Untersuchungen wurden die Blutspender in drei Gruppen eingeteilt: normalgewichtig ($\text{BMI} 18,5$ bis $24,9 \text{ kg/m}^2$), übergewichtig ($\text{BMI} 25$ bis $29,9 \text{ kg/m}^2$) und adipös ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Nach Isolation peripherer mononukleärer Zellen (*peripheral blood mononuclear cells*, PBMCs) wurden mittels durchflusszytometrischer Analysen sowohl Immunzellpopulationen als auch 23 verschiedene Oberflächenmarker sowie intrazelluläre Marker auf Gesamt-NK-Zellen und den $\text{CD56}^{\text{dim}}/\text{CD16}^{\text{bright}}$ - und $\text{CD56}^{\text{bright}}/\text{CD16}^{\text{dim/neg}}$ -NK-Zell-

Subpopulationen untersucht. Neben einer erhöhten Frequenz von Natürlichen Killer-T (NKT)-Zellen zeigten die Ergebnisse eine verminderte Expression der aktivierenden NK-Zell-Rezeptoren NKp46 und KIR2DS4 sowie eine erhöhte Expression der inhibierenden NK-Zell-Rezeptoren NKG2A und Siglec-7 auf NK-Zellen von übergewichtigen und adipösen Blutspendern im Vergleich zu normalgewichtigen Blutspendern. Zudem waren die Expression des Adhäsionsmoleküls CD62L und des Reifungs- und Differenzierungsmarkers CD27 auf NK-Zellen übergewichtiger und fettleibiger Personen gegenüber Normalgewichtigen reduziert. Diese Veränderungen waren hauptsächlich auf den Gesamt-NK-Zellen sowie der eher zytotoxischen CD56^{dim}/CD16^{bright}-NK-Zell-Subpopulation zu beobachten; teilweise jedoch auch spezifisch auf der eher immunregulatorischen CD56^{bright}/CD16^{dim/neg.}-NK-Zell-Subpopulation (Naujoks et al. 2020).

Diese Daten zeigten einen gestörten Phänotyp der Gesamt-NK-Zellen sowie erstmals speziell auch phänotypische Veränderungen bei NK-Zell-Subpopulationen bei adipösen Menschen. Zudem konnte bei übergewichtigen Blutspendern ein veränderter NK-Zell-Phänotyp festgestellt werden.

2.3 Untersuchungen zur Zytotoxizität muriner und humaner NK-Zellen gegen Kolonkarzinomzellen

In früheren Studien zur Untersuchung der NK-Zell-Zytotoxizität bei adipösen Menschen und Versuchstieren wurden hauptsächlich die humane myeloische Leukämie-Zelllinie K562 oder Lymphomzelllinien als Zielzellen genutzt (Lamas et al. 2004, O'Shea et al. 2010, Moulin et al. 2011, Lamas et al. 2015, Tobin et al. 2017, Kaur et al. 2018). Um Adipositas-bedingte Veränderungen der Zielzellyse spezifisch gegen Kolonkarzinomzellen zu untersuchen, wurden in eigenen Untersuchungen verschiedene Zytotoxizitätsmessungen unter Verwendung der humanen Kolonkarzinomzelllinie DLD-1 sowie der murinen Kolonkarzinomzelllinie CT26 als Zielzellen durchgeführt.

Zum einen wurden mittels magnetischer Zellseparation NK-Zellen aus der Milz normalgewichtiger und Diät-induziert adipöser C57BL/6-Mäuse isoliert und mit CT26-Kolonkarzinomzellen co-inkubiert. Echtzeit-Zytotoxizitätsmessungen mittels der *XCelligence*-Technik konnten nachweisen, dass die zytolytische Aktivität gegenüber Kolonkarzinomzellen bei NK-Zellen aus adipösen Mäusen gegenüber normalgewichtigen Mäusen signifikant verringert war (Spielmann et al. 2020b).

Zum anderen konnte bei humanen NK-Zellen ein Einfluss des Adipozytokins Leptin auf die NK-Zell-Zytotoxizität gegenüber Kolonkarzinomzellen festgestellt werden. Versuche mit der humanen NK-Zelllinie NK-92 und primären humanen NK-Zellen zeigten, dass die zytolytische Aktivität gegen humane DLD-1-Kolonkarzinomzellen bei primären NK-Zellen deutlich höher war als bei NK-92-Zellen, während NK-92-Zellen gegenüber primären NK-Zellen eine signifikant höhere IFN- γ -Sekretion aufwiesen. Zytotoxizitätsversuche mittels Europium-Zytotoxizitäts-Assays konnten nachweisen, dass eine Vorinkubation mit Leptin sowohl bei NK-92-Zellen als auch bei primären NK-Zellen zu einer reduzierten Lyse von DLD-1-Kolonkarzinomzellen führt (Jahn et al. 2015, Bähr et al. 2017). Während die IFN- γ -Sekretion bei NK-92-Zellen durch Leptin-Vorinkubation nicht beeinflusst wurde, war die IFN- γ -Freisetzung bei Co-Inkubation primärer NK-Zellen mit DLD-1-Zellen nach Leptinbehandlung signifikant verringert. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Leptin-Inkubation von NK-92-Zellen mit einer signifikant reduzierten mRNA-Expression der aktivierenden Rezeptoren NKG2D und NKp46 einhergeht (Bähr et al. 2017).

In einem weiteren Versuch wurden aus *Buffy Coats* von normalgewichtigen, übergewichtigen und adipösen Blutspendern mittels magnetischer Zellseparation primäre NK-Zellen isoliert. Diese wurden in Echtzeit-Zytotoxizitätsmessungen mit humanen DLD-1-Kolonkarzinomzellen co-inkubiert. Die Ergebnisse zeigten eine zeitabhängige Zytolyse der Kolonkarzinomzellen nach Zugabe von NK-Zellen. Dabei war die zytotoxische Aktivität der NK-Zellen von adipösen Blutspendern gegenüber NK-Zellen von normalgewichtigen Blutspendern 8, 12, 16, 24 und 40 Stunden nach NK-Zell-Zugabe signifikant reduziert. Zudem konnte auch bei NK-Zellen übergewichtiger gegenüber normalgewichtigen Blutspendern 24 und 40 Stunden nach NK-Zell-Zugabe eine signifikante Verringerung der Zytotoxizität gegenüber DLD-1-Kolonkarzinomzellen festgestellt werden. Untersuchungen zur Degranulierung konnten ferner zeigen, dass K562-stimulierte NK-Zellen übergewichtiger Spender gegenüber normalgewichtigen Spendern eine reduzierte CD107a-Expression aufwiesen (Naujoks et al. 2020).

Um herauszufinden, welche Störungen in Tötungsmechanismen der NK-Zellen zur verringerten Zielzelllyse bei Adipositas führen, wurden neben direkten Zytotoxizitätsmessungen auch die intrazelluläre Expression von Granzymen und Perforin sowie die intrazelluläre Expression des Todesrezeptorliganden TRAIL auf NK-Zellen normalgewichtiger, übergewichtiger und adipöser Blutspender bestimmt. Während es keine Unterschiede in der Expression von Granzym A, Granzym B und Perforin zwischen den drei BMI-Gruppen gab, konnte bei NK-Zellen adipöser Blutspender eine signifikant reduzierte TRAIL-Expression

festgestellt werden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Adipositas mit Störungen der Todesliganden-induzierten Zytotoxizität, nicht jedoch der Granula-abhängigen Zellyse, einhergeht (Naujoks et al. 2020).

Diese Daten konnten erstmals nachweisen, dass Adipositas bei Maus und Mensch zu einer verringerten zytotoxischen Aktivität von NK-Zellen gegen Kolonkarzinomzellen führt. Zudem wurde gezeigt, dass bereits das prä-adipöse Stadium mit einer gestörten Lyse von Kolonkarzinomzellen durch NK-Zellen einhergeht.

2.4 Bedeutung Adipositas-assoziiierter Veränderung von NK-Zellen für das erhöhte Kolonkarzinomrisiko bei Fettleibigkeit

Im nächsten Schritt sollte die Bedeutung Adipositas-assoziiierter Veränderung von NK-Zellen für die Entstehung von kolorektalen Karzinomen *in vivo* untersucht werden. Dafür wurden Wistar-Ratten für 46 Wochen mit einer NFD oder zur Induktion der Adipositas mit einer HFD gefüttert. Zudem wurde den NFD- und HFD-gefütterten Ratten 8 Wochen nach Beginn der Fütterung zweimal im Abstand von einer Woche das Karzinogen Azoxymethan (AOM) appliziert, was die Ausbildung von Kolontumoren bewirkt. Den NFD- und HFD-gefütterten Kontrolltieren wurde eine 0,9 % Natriumchloridlösung injiziert. Das Versuchsende erfolgte 37 Wochen nach der letzten AOM-Applikation. Im Ergebnis wiesen die Diät-induziert adipösen Ratten gegenüber den normalgewichtigen Versuchstieren ein erhöhtes Körpergewicht, eine erhöhte viszerale Fettmasse, verminderte Plasmakonzentrationen des anti-inflammatorischen Zytokins IL-10 sowie erhöhte Plasmakonzentrationen des pro-inflammatorischen Zytokins IL-1 β auf. Darüber hinaus zeigten die AOM-behandelten adipösen Versuchstiere im Vergleich zu den AOM-behandelten Kontrolltieren eine erhöhte Anzahl, Größe und Gewicht der Kolontumoren sowie eine höhere Rate maligner Kolontumoren (Adenokarzinome) im Vergleich zu benignen Kolontumoren (Adenomen). Untersuchungen der NK-Zellen zeigten, dass die Anzahl der NK-Zellen in der Milz bei adipösen Ratten signifikant und in der Leber tendenziell, aber nicht signifikant, reduziert war. Ferner wurde eine verringerte mRNA-Expression der aktivierenden NK-Zell-Rezeptoren NKG2D und NKp46 in der Milz und des aktivierenden NK-Zell-Rezeptors NKp30 in der Leber festgestellt (Bähr et al. 2017). Weiterhin wurden erstmals das Vorkommen und die Lokalisation von NK-Zellen im kolorektalen Tumorgewebe normalgewichtiger und adipöser Individuen charakterisiert. Die Ergebnisse immunhistochemischer Untersuchungen zeigten, dass NK-Zellen in der *Tunica mucosa* und der *Tunica submucosa* kolorektaler Karzinome vorkommen.

NK-Zellen bildeten insbesondere im Bereich um die *Lamina muscularis mucosae*, in der *Lamina propria mucosae* der *Tunica mucosa* und in der *Tunica submucosa* angrenzend an die *Lamina muscularis mucosae* follikelartige Ansammlungen. Eine quantitative Analyse von NK-Zellen im Kolontumorgewebe in Abhängigkeit vom Körpergewicht zeigte, dass die Anzahl der NK-Zellen in der *Tunica mucosa* kolorektaler Tumore bei HFD-gefütterten Ratten im Vergleich zu NFD-gefütterten Ratten tendenziell, aber nicht signifikant, reduziert war (Bähr et al. 2021). Interessanterweise korrelierte die Anzahl der NK-Zellen unabhängig von der gefütterten Diät positiv mit dem finalen Körpergewicht der Ratten. HFD-gefütterte Ratten, welche unter AOM-Behandlung Tumoren entwickeln, hatten – vermutlich durch einen erhöhten tumorbedingten Energieverbrauch – ein geringeres Körpergewicht und eine geringere Körperfettmasse als HFD-gefütterte Ratten ohne Tumorentstehung. Diese Daten lassen vermuten, dass hauptsächlich Effekte der HFD-Fütterung und weniger metabolische Einflüsse der Fettleibigkeit zu der leicht verminderten NK-Zellzahl in der *Tunica mucosa* kolorektaler Karzinome führen (Bähr et al. 2021).

Die Ergebnisse dieses Tierversuches bestätigen erneut das erhöhte Kolonkarzinomrisiko bei Adipositas. Ferner wurde gezeigt, dass ein verschlechtertes Tumorgeschehen mit einer reduzierten NK-Zellanzahl in Milz, Leber und Kolontumorgewebe sowie einer verminderten mRNA-Expression aktivierender NK-Zell-Rezeptoren assoziiert ist. Diese Daten deuten darauf hin, dass eine verminderte NK-Zellzahl und eine gestörte NK-Zell-Funktion eine Ursache für das erhöhte Kolontumorrisiko bei Adipositas sein kann.

Neben der Bedeutung von NK-Zellen für die Entstehung kolorektaler Karzinome bei Adipositas wurde die Bedeutung des molekularen Tumormarkers MACC1 für die Adipositas-assoziierte Tumorentstehung untersucht. Zunächst sollte überprüft werden, ob die MACC1-Expression bei Übergewicht und Adipositas verändert ist. In Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Tobias Pischon und Prof. Dr. Ulrike Stein (Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin der Helmholtz-Gemeinschaft, Charité - Universitätsmedizin Berlin) wurde die MACC1-Plasmaexpression an 191 Proben von Probanden einer Studie zu Messmethoden beim Metabolischen Syndrom bestimmt (Jaeschke et al. 2020). Die Ergebnisse zeigten, dass Probanden in der höchsten MACC1-Terzile gegenüber den Probanden in der niedrigsten MACC1-Terzile höhere Werte für BMI, *Waist-to-Hip-Ratio*, Taillenumfang und Fettmasse aufwiesen. Zudem waren die geometrischen Mittel der MACC1-Konzentrationen bei adipösen Probanden verglichen mit normalgewichtigen und übergewichtigen Probanden am höchsten (Bähr et al. 2022). Weiterhin wurde in einer weiteren Kohorte die MACC1-Expression bei 32 gesunden adipösen

Probanden analysiert. Hier konnte eine positive Korrelation zwischen Plasma-MACC1-Expression und Körperfettmasse nachgewiesen werden, wobei die Unterschiede nicht signifikant waren ($P = 0,06$; Jahn et al. 2015, Bähr et al. 2022). Ergänzend wurde die MACC1-Expression auch im Plasma von normalgewichtigen und adipösen Wistar-Ratten mit und ohne Kolonkarzinom untersucht. Die Ergebnisse zeigten eine erhöhte MACC1-Expression im Plasma adipöser Ratten gegenüber normalgewichtigen Ratten, wobei die Unterschiede bei Tieren mit AOM-induzierten Kolontumoren signifikant waren. Korrelationsanalysen der MACC1-Expression mit dem Körpergewicht der Ratten zeigten auch hier eine tendenziell positive Korrelation der beiden Faktoren ($P = 0,06$) auf (Bähr et al. 2022). Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass MACC1 in der Adipositas-assoziierten Tumorgenese eine Rolle spielen könnte.

2.5 Reaktivierung gestörter NK-Zellen durch Nahrungsrestriktion und Gewichtsreduktion

Frühere Arbeiten an Mäusen haben nachgewiesen, dass der Einsatz verschiedener Fütterungsregimes, wie kalorische oder zeitliche Restriktion der Fütterung, die Entstehung von Fettleibigkeit und damit auch metabolische und immunologische Parameter beeinflusst (Hatori et al. 2012, Clinthorne et al. 2013, Chaix et al. 2019). Bislang wurden Studien an Tiermodellen zur Untersuchung Adipositas-assoziiierter Effekte auf NK-Zellen jedoch hauptsächlich durch Fütterung von Hochfettdiäten unter einem *ad libitum*-Fütterungsregime durchgeführt (Bähr et al. 2020). In unseren Untersuchungen an C57BL/6-Mäusen wurde analysiert, in wie weit eine restriktive Fütterung Auswirkungen auf NK-Zell-Parameter hat. Dazu wurden die Mäuse für 17 Wochen entweder mit einer NFD oder einer HFD unter *ad libitum*- oder restriktivem Fütterungsregime gefüttert. Die restriktiv gefütterten Gruppen erhielten je 90 % der täglichen Futtermenge der korrespondierenden *ad libitum*-Gruppe. Die Ergebnisse zeigten, dass eine Restriktion der Futtermenge bei NFD-Fütterung gegenüber *ad libitum*-NFD-gefütterten C57BL/6-Mäusen keinen signifikanten Einfluss auf Körpergewicht, Fettmasse, Plasma-Zytokinkonzentrationen, Immunzellpopulationen oder Anzahl, Frequenz und Phänotyp von NK-Zellen hatte. Demgegenüber wiesen C57BL/6-Mäuse nach restriktiver Fütterung einer HFD gegenüber *ad libitum*-HFD-gefütterten Mäusen eine signifikante Reduktion von Körpergewicht, Fettmassen und IL-6-Plasmakonzentrationen auf. Des Weiteren wurde die signifikante Reduktion der Expression des Reifungsmarkers CD127 auf den Gesamt-NK-Zellen und der CD11b⁺CD27⁺-NK-Zell-Subpopulation im Blut nach *ad libitum*-Fütterung einer HFD durch das restriktive Füttern der HFD verhindert. Zudem konnten bei C57BL/6-Mäusen mit restriktiver Fütterung der HFD gegenüber *ad libitum*-HFD-

gefütterten Mäusen signifikante Veränderungen der relativen mRNA-Konzentrationen der aktivierenden NK-Zell-Rezeptoren CD16 und CD161 sowie des NKG2D-Rezeptorliganden MULT-1 im Fettgewebe festgestellt werden (Spielmann et al. 2020b). Diese Daten deuten darauf hin, dass eine moderate Restriktion der HFD-Futtermenge das inflammatorische Profil *ad libitum*-HFD-gefütterter C57BL/6-Mäuse verbessert und die Adipositas-assoziierten Veränderungen von NK-Zellen in Blut und Fettgewebe teilweise verhindern kann.

Bislang wurden Studien zum Einfluss von Adipositas auf NK-Zellen hauptsächlich an Diät-induziert adipösen C57BL/6-Mäusen durchgeführt und es blieb unklar, ob die Effekte auf NK-Zellen durch metabolische Veränderungen bei Fettleibigkeit oder durch spezielle Faktoren der Hochfettdiät selbst induziert werden. Daher wurden Effekte einer Diät-induzierten Adipositas und des Fütterungsregimes auf NK-Zellen auch beim Adipositas-resistenten BALB/c-Mausstamm untersucht. Analog zu den C57BL/6-Mäusen wurden weibliche BALB/c-Mäuse für 17 Wochen entweder mit einer NFD oder einer HFD unter *ad libitum*- oder restriktivem Fütterungsregime gefüttert. Die Ergebnisse zeigten, dass eine *ad libitum*-Fütterung einer HFD bei BALB/c-Mäusen gegenüber *ad libitum*-NFD-gefütterten Tiere keine signifikanten Effekte auf Körpergewicht, Fettmasse, Plasma-Zytokinkonzentrationen, Immunzellpopulationen sowie Anzahl, Frequenz und Phänotyp der NK-Zellen im Blut hatte. Demgegenüber ging das restriktive Füttern einer HFD gegenüber einer restriktiven NFD-Fütterung mit einer signifikanten Erhöhung von Körpergewicht, viszeraler Fettmasse und Plasma-IFN- γ -Konzentrationen sowie Veränderungen in der Frequenz der eher unreifen CD11b⁻CD27⁺-NK-Zell-Subpopulation und der Expression des Reifungsmarkers KLRG1 auf NK-Zellen einher (Spielmann et al. 2021). Diese Daten deuten darauf hin, dass die Veränderungen an NK-Zellen durch Fütterung einer Hochfettdiät eher durch Adipositas-bedingte Störungen des metabolischen Profils und weniger durch spezielle Faktoren der Hochfettdiät selbst induziert werden.

Im Gegensatz zu den Versuchen an C57BL/6-Mäusen wurden bei BALB/c-Mäusen Effekte der restriktiven Fütterung einer normokalorischen Diät auf NK-Zellen beobachtet. Eine restriktive Fütterung von BALB/c-Mäusen mit einer NFD führte gegenüber der *ad libitum*-gefütterten Kontrollgruppe zur Reduktion von Körpergewicht und Fettmasse sowie zu einer erhöhten Frequenz der eher unreifen CD11b⁻CD27⁻- und CD11b⁺CD27⁺-NK-Zell-Subpopulationen und verminderten Frequenz der eher reifen CD11⁺CD27⁻-NK-Zell-Subpopulation. Zudem war auf NK-Zellen von BALB/c-Mäusen mit restriktiver Fütterung einer NFD die Expression des Reifungsmarkers KLRG1 erniedrigt und die Expression des Reifungsmarkers CD127 erhöht (Spielmann et al. 2021).

Neben Tierversuchen mit restriktiver Fütterung wurde eine Studie an adipösen Frauen und Männern mit einem BMI $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ und einem Alter von maximal 65 Jahren durchgeführt, um die Effekte einer Lebensstil-Intervention auf die gestörte NK-Zell-Funktion zu untersuchen. Ausgeschlossen wurden Schwangere und Stillende, sowie Personen mit chronischen Infektionen, akuten und endokrinen Erkrankungen oder bei immunsuppressiver Therapie. Die 32 Studienteilnehmer wurden in eine experimentelle und eine Kontrollgruppe eingeteilt. Personen der experimentellen Gruppe nahmen für drei Monate an einem moderaten und individuell angepassten Sportprogramm mit einer Stunde Ausdauertraining und zwei Mal einer Stunde Kombinationstraining aus Kräftigung und Ausdauer pro Woche teil. Zusätzlich erfolgten Ernährungsberatungen nach den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE) e.V. zur Thematik „Gesunde Ernährung“ und „Gewichtsreduktion“. Teilnehmer der Kontrollgruppe waren hinsichtlich BMI, Alter und Geschlecht angepasst und erhielten weder Ernährungsempfehlungen noch nahmen sie an sportlichen Trainingseinheiten teil.

Die Auswertung der Daten zeigte keine Veränderungen der Parameter bei der Kontrollgruppe. Bei Sport- und diätetischer Intervention wurde jedoch bei männlichen Teilnehmern der experimentellen Gruppe eine leichte Reduktion von Körpergewicht und BMI und eine signifikante Reduktion von Taillen- und Hüftumfang, Körperfettmasse, Blutglukosekonzentration und Plasma-Leptinspiegel drei Monate nach Beginn der Interventionen festgestellt. Bei Frauen der experimentellen Gruppe hingegen gab es lediglich leichte, aber nicht signifikante Effekte hinsichtlich dieser Parameter. Männliche, nicht aber weibliche Studienteilnehmer der experimentellen Gruppe wiesen der Analyse isolierter PBMCs eine signifikante Senkung der Frequenz an Monozyten und eine signifikante Erhöhung der T-Zell-Frequenz auf. Während die Frequenz der Gesamt-NK-Zellen sowie NK-Zell-Subpopulationen nach Intervention nicht verändert war, zeigten NK-Zellen männlicher Studienteilnehmer eine zweifache Erhöhung der IFN- γ -Expression in der eher zytotoxischen CD56^{dim}-NK-Zell-Subpopulation (Jahn et al. 2015). Die Ergebnisse dieser Studie verdeutlichen, dass eine Reduktion von Körperfettmasse bei Adipositas mit einer Modulation immunologischer Funktionen, insbesondere der NK-Zell-Funktionalität einhergeht.

Insgesamt zeigen die Daten, dass bereits eine moderate Lebensstil-Intervention mit geringer Reduktion der Energieaufnahme, leichter körperlicher Aktivität und Ernährungsumstellung die Funktionalität gestörter NK-Zellen reaktivieren kann.

3 Diskussion und Ausblick

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der zugrundeliegenden Originalarbeiten hinsichtlich der Fragestellungen und unter Einbeziehung publizierter Studien diskutiert.

3.1 Adipositas-assoziierte Veränderungen von NK-Zellen bei der Maus

Unsere Untersuchungen an Diät-induziert adipösen C57BL/6-Mäusen konnten nachweisen, dass die Anzahl der peripheren NK-Zellen durch Adipositas nicht verändert war, Fettleibigkeit jedoch mit einer verminderten NK-Zell-Frequenz im Blut einhergeht (Spielmann et al. 2020b). Bisherige Studien lieferten sehr kontroverse Ergebnisse zum Einfluss von Adipositas auf die NK-Zellzahl in Blut oder Geweben, wie Fettgewebe, Milz, Lunge oder Leber (Mori et al. 2006, Nave et al. 2008, Lee et al. 2016, Theurich et al. 2017, Bähr et al. 2020). Diese Diskrepanzen könnten durch Spezies- oder Tierstamm-spezifische metabolische Besonderheiten oder durch Unterschiede in Entwicklung, Abbau oder Migration von NK-Zellen bedingt sein. Weiterhin wurde bei adipösen Ratten auch eine Kompartiment-spezifische Verteilung der NK-Zellen mit einer erhöhten NK-Zellzahl in Blut und Milz bei gleichzeitig erniedrigter NK-Zellzahl in der Leber festgestellt (Behrendt et al. 2010). Zudem kann auch die Verwendung heterogener Analysemethoden Ursache für die kontroversen Ergebnisse sein. Während in einigen Studien die „absolute NK-Zellzahl“ bestimmt wird, wird in anderen Untersuchungen die NK-Zell-Menge als „NK-Zell-Frequenz als Prozent der Leukozyten oder PBMCs“ angegeben. Da Fettleibigkeit auch Einfluss auf die Anzahl anderer Blutzellen nimmt, könnten Adipositas-assoziierte Veränderungen der NK-Zell-Frequenz auch Ursache eines Shifts in der Anzahl anderer Immunzellen sein (Alwarawrah et al. 2018). In unserer Studie an C57BL/6-Mäusen ist die erniedrigte NK-Zell-Frequenz bei Diät-induzierter Adipositas möglicherweise auf die Erhöhung der Anzahl an Monozyten, B-Zellen und Granulozyten zurückzuführen (Spielmann et al. 2020b). In zukünftigen Untersuchungen könnte die gleichzeitige Bestimmung der „absoluten NK-Zellzahl“ sowie der „NK-Zell-Frequenz“ verbunden mit Analysen zur Anzahl anderer Immunzellen dazu beitragen, eindeutige und vergleichbare Aussagen über den Einfluss von Adipositas auf die NK-Zell-Menge zu erhalten.

Im Rahmen funktioneller Studien unserer Arbeitsgruppe wurde erstmals die NK-Zell-Zytotoxizität direkt gegenüber Kolonkarzinomzellen bestimmt. In früheren Untersuchungen wurde bereits eine Reduktion der zytolytischen Aktivität von NK-Zellen durch Adipositas festgestellt (Lamas et al. 2015, Kaur et al. 2018). Allerdings wurden in diesen Studien

ausschließlich Leukämie- oder Lymphomzelllinien als Zielzellen der NK-Zell-Lyse eingesetzt. Ergebnisse unserer Untersuchungen an C57BL/6-Mäusen zur NK-Zell-Zytotoxizität konnten nun auch eine deutlich reduzierte Lyse von CT26.WT-Kolonkarzinomzellen durch primär isolierte NK-Zellen aus adipösen Mäusen gegenüber normalgewichtigen Mäusen nachweisen (Spielmann et al. 2020b).

Neben Anzahl, Frequenz und Zytotoxizität von NK-Zellen wurde in unseren Untersuchungen an C57BL/6-Mäusen erstmals auch der Einfluss von Diät-induzierter Adipositas auf die vier murinen NK-Zell-Subpopulationen im Blut untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass Fettleibigkeit mit einer verringerten Frequenz reifer CD11b⁺CD27⁺-NK-Zellen einhergeht (Spielmann et al. 2020b). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Fütterung einer Hochfettdiät Einfluss auf die Regulierung der Differenzierung und Reifung peripherer NK-Zellen nimmt. Da die CD11b⁺CD27⁺-NK-Zell-Subpopulation im Vergleich zu den anderen murinen NK-Zell-Subpopulationen die höchste Zytotoxizität aufweist, könnte eine verminderte Frequenz der CD11b⁺CD27⁺-NK-Zellen eine Ursache für die Reduktion der zytotoxischen NK-Zell-Aktivität darstellen (Hayakawa und Smyth 2006).

Zusätzlich zur erniedrigten Frequenz an Gesamt-NK-Zellen und der CD11b⁺CD27⁺-NK-Zell-Subpopulation zeigten Ergebnisse unserer Untersuchungen erstmals auch Veränderungen der Rezeptorausstattung von NK-Zellen bei Adipositas. Der Reifungsmarker KLRG1 war auf NK-Zellen fettleibiger C57BL/6-Mäuse signifikant höher exprimiert als bei normalgewichtigen C57BL/6-Mäusen (Spielmann et al. 2020b). Die KLRG1-Expression auf NK-Zellen ist mit einer verminderten zytotoxischen Aktivität assoziiert (Robbins et al. 2002, Müller-Durovic et al. 2016). Somit könnte auch die verminderte KLRG1-Expression bei adipösen Mäusen zur gestörten NK-Zell-Zytotoxizität beitragen.

Neben Untersuchungen an NK-Zellen im Blut wurden im Rahmen unserer Analysen signifikante Veränderungen aktivierender und inhibierender NK-Zell-Rezeptoren sowie des NKG2D-Rezeptorligands ULBP-1 im Fettgewebe adipöser C57BL/6-Mäuse im Vergleich zu normalgewichtigen Kontrolltieren festgestellt (Spielmann et al. 2020b). Adipositas-assoziierte Veränderungen von NK-Zell-Rezeptorliganden und der Funktionalität von NK-Zellen im Fettgewebe wurden mit Störungen der Makrophagen-Infiltration sowie der Polarisierung der anti-inflammatorischen M2-Makrophagen in pro-inflammatorische M1-Makrophagen in Verbindung gebracht (O'Rourke et al. 2013, Wensveen et al. 2015). Inwieweit NK-Zellen über

einen Einfluss auf die Makrophagen-Aktivität zur Fettgewebsinflammation bei Adipositas beitragen bleibt Gegenstand zukünftiger Untersuchungen.

3.2 Adipositas-assoziierte Veränderungen von NK-Zellen beim Menschen

Wie bereits im Tiermodell belegt, geht Adipositas auch beim Menschen mit Störungen in Anzahl, Phänotyp, Verhältnis der Subpopulationen, Verteilung in verschiedenen Geweben, Zytotoxizität, Zytokinfreisetzung und Signalkaskaden bei NK-Zellen einher (Bähr et al. 2020). Dabei wurden in früheren Untersuchungen zum Einfluss von Fettleibigkeit auf NK-Zellen ausschließlich Effekte auf die Gesamt-NK-Zell-Population, nicht aber auf NK-Zell-Subpopulationen analysiert. Zudem fehlten bislang Studien zu möglichen NK-Zell-Dysfunktionen bei Vorliegen einer Prä-Adipositas (Übergewicht). Daher wurden bisherige Daten durch eine detaillierte durchflusszytometrische Analyse unserer Arbeitsgruppe von Phänotyp, Funktionalität und Rezeptorausstattung bei Gesamt-NK-Zellen sowie bei den Subpopulationen CD56^{bright}CD16^{dim/neg.}- und CD56^{dim}CD16^{bright}-NK-Zellen von normalgewichtigen, übergewichtigen und adipösen Blutspendern ergänzt. In Übereinstimmung mit Studien anderer Autoren konnten wir bei diesen Untersuchungen keine Unterschiede in Anzahl und Frequenz der Gesamt-NK-Zellen sowie der CD56^{bright}CD16^{dim/neg.}- und CD56^{dim}CD16^{bright}-NK-Zell-Subpopulationen zwischen den der BMI-Gruppen nachweisen (Laue et al. 2015, Donninelli et al. 2017, Rosenstock et al. 2017, Naujoks et al. 2020). Im Gegensatz dazu wurde in anderen Studien an NK-Zellen adipöser Menschen eine erniedrigte Frequenz der eher zytotoxischen CD56^{dim}CD16^{bright}-NK-Zellen bei gleichzeitig erhöhter Frequenz der eher immunregulatorischen CD56^{bright}CD16^{dim/neg.}-NK-Zellen festgestellt (Tobin et al. 2017, Bähr et al. 2018). Es wurde gezeigt, dass unter dem Einfluss spezifischer Zytokine und Hormone eine Umwandlung der CD56^{dim}CD16^{bright}-NK-Zell-Subpopulation in die CD56^{bright}CD16^{dim/neg.}-NK-Zell-Subpopulation möglich ist (Lukassen et al. 2004, Dowell et al. 2012). Ob Adipositas-assoziierte Metabolite eine Umwandlung der CD56^{dim}CD16^{bright} NK-Zell-Subpopulation in die CD56^{bright}CD16^{dim/neg.}-NK-Zell-Subpopulation induziert und inwieweit dies Einfluss auf die Zytotoxizität und Zytokinsekretion von NK-Zellen nimmt, bleibt Gegenstand zukünftiger Untersuchungen.

Unsere Analysen zu NK-Zell-Rezeptoren und funktionellen NK-Zell-Markern bei Blutspendern verschiedener BMI-Gruppen konnten eine verminderte Expression der aktivierenden Rezeptoren KIR2DS4 und NKp46 bei gleichzeitig verminderter Expression des inhibierenden

Rezeptors NKG2A und Siglec-7 auf NK-Zellen bei Übergewicht und Adipositas belegen (Naujoks et al. 2020). Auch andere Studien zeigen eine reduzierte Expression aktivierender NK-Zell-Rezeptoren sowie eine erhöhte Expression inhibierender NK-Zell-Rezeptoren bei adipösen Menschen (Lynch et al. 2009, Viel et al. 2017, Bähr et al. 2018, Castellana et al. 2018). Diese Ergebnisse deuten auf einen verminderten Aktivierungsstatus von NK-Zellen bei Fettleibigkeit hin, was Ursache für eine verminderte Zielzelllyse durch NK-Zellen bei Adipositas sein kann. Eigene Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe konnten weiterhin eine verminderte Expression des Adhäsionsmoleküls CD62L bei adipösen Blutspendern belegen (Naujoks et al. 2020). CD62L spielt eine bedeutende Rolle bei der Migration und Gewebeeinfiltration von NK-Zellen (Chen et al. 2005; Juelke et al. 2010). Somit inhibiert eine reduzierte Expression von CD62L auf NK-Zellen möglicherweise das Einwandern von NK-Zellen in infektiöses oder Tumorgewebe und damit die Lyse von virusinfizierten- und Tumorzellen bei adipösen Menschen.

Unsere durchflusszytometrischen Analysen hinsichtlich der Rezeptorexpression auf NK-Zell-Subpopulationen zeigen, dass die Mehrzahl der Adipositas-assoziierten Veränderungen an NK-Zellen bei den Gesamt-NK-Zellen sowie der zytotoxischen CD56^{dim}CD16^{bright}-NK-Zell-Subpopulation zu beobachten ist, einige Effekte jedoch zusätzlich auch oder ausschließlich bei den immunregulatorischen CD56^{bright}CD16^{dim/neg.}-NK-Zellen auftreten (Bähr et al. 2018, Naujoks et al. 2020). Um die Bedeutung der NK-Zell-Subpopulationen beim Einfluss Adipositas-mediierter Veränderungen auf NK-Zellen näher zu charakterisieren, sollte bei zukünftigen Studien die spezifische Analyse von NK-Zell-Subpopulationen eingeschlossen werden.

Bisherige Untersuchungen zur NK-Zell-Zytotoxizität bei Menschen konnten eine signifikante Reduktion der Zielzelllyse bei Adipositas nachweisen (O'Shea et al. 2010, Moulin et al. 2011, Tobin et al. 2017). Jedoch wurden in diesen Studien die Lymphomzelllinie YAC-1 oder die Leukämiezelllinie K562 als Zielzellen genutzt. Unsere Echtzeit-Zytotoxizitätsmessungen mit Verwendung von DLD-1-Kolonkarzinomzellen als Zielzellen konnten eine signifikante Verringerung der Zielzelllyse von NK-Zellen übergewichtiger und adipöser Blutspender verglichen mit NK-Zellen normalgewichtiger Spender belegen (Naujoks et al. 2020). Damit wird deutlich, dass die NK-Zell-Dysfunktion auch beim Menschen eine Ursache für das erhöhte Kolonkarzinomrisiko bei Adipositas sein kann. Lamas *et al.* haben gezeigt, dass sich die zytotoxische Aktivität von NK-Zellen je nach verwendeter Zielzelle unterscheidet (Lamas

et al. 2013). Auch in unseren Untersuchungen konnten Unterschiede in der Zytotoxizität von NK-Zellen gegenüber verschiedenen Zielzellen festgestellt werden. So war die Lyserate von NK-Zellen gegen DLD-1-Kolonkarzinomzellen etwa 50 % höher als die NK-Zell-Lyse gegen MCF-7-Mammakarzinomzellen (Naujoks et al. 2020). In zukünftigen Studien zur NK-Zell-Zytotoxizität sollten demnach unterschiedliche Zielzellen mit Spezifität zur untersuchten Tumorentität eingesetzt werden, um die zytolytische Kapazität von NK-Zellen hinreichend charakterisieren zu können.

Neben den beschriebenen Befunden zur erniedrigten Expression aktivierender NK-Zell-Rezeptoren bei Adipositas existieren auch Studien, die einen erhöhten Aktivierungsstatus mit Anstieg der CD69- und NKp46-Rezeptorexpression sowie einer Verringerung des inhibierenden NKG2A/CD94-Komplexes aufzeigen. Dennoch war in diesen Studien die Zytokinfreisetzung, Degranulation und Zytotoxizität von NK-Zellen bei Adipositas reduziert (Tobin et al. 2017, Viel et al. 2017). Es wurde diskutiert, dass die hoch aktivierten NK-Zellen adipöser Individuen bei Kontakt mit Zielzellen möglicherweise schneller erschöpft sind als NK-Zellen normalgewichtiger Menschen, was wiederum zu einer verringerten Abwehr von virusinfizierten und Tumorzellen führt (Tobin et al. 2017, Viel et al. 2017). Diskrepanzen in den Ergebnissen zum Einfluss von Fettleibigkeit auf NK-Zellen zwischen den unterschiedlichen Studien an humanen Proben können jedoch auch durch die Verwendung verschiedener Marker und Methoden zur Identifizierung von NK-Zellen sowie die Untersuchung in verschiedenen Geweben bedingt sein. Wie in der Studie der eigenen Arbeitsgruppe gezeigt, treten auch bei Blutspendern derselben BMI-Gruppe teilweise starke individuelle Unterschiede in der NK-Zell-Rezeptorexpression auf (Naujoks et al. 2020). In zukünftigen Untersuchungen sollten demnach auch Einflüsse individueller Parameter der Studienpopulation, wie Nikotinkonsum, Ernährungsverhalten, körperliche Aktivität oder andere metabolische Faktoren, auf NK-Zellen in die Analysen einbezogen werden.

Es ist bekannt, dass bereits eine Prä-Adipositas mit einem erhöhten Risiko für Bluthochdruck, Hyperlipidämie und Insulinresistenz einhergeht. Bislang existierten keinerlei Studien, inwiefern bereits ein erhöhter BMI zwischen 25 und 29,9 kg/m² zu Veränderungen an NK-Zellen führen kann. Die Daten unserer Untersuchungen konnten erstmals zeigen, dass die gestörte NK-Zell-Funktionalität nicht nur auf Adipositas beschränkt ist, sondern schon bei prä-adipösen Blutspendern Veränderungen des NK-Zell-Phänotyps und der NK-Zell-Zytotoxizität fest-

zustellen sind (Naujoks et al. 2020). Die Daten lassen vermuten, dass die NK-Zell-vermittelte Abwehr von virusinfizierten und Tumorzellen bereits bei Übergewicht vermindert ist.

3.3 Mechanismen der Vermittlung der NK-Zell-Dysfunktion bei Adipositas

In zahlreichen Tierversuchs- und Humanstudien wurde belegt, dass Adipositas mit Veränderungen von Anzahl, Phänotyp und funktionellen Parametern bei NK-Zellen einhergeht. Bislang bleibt unklar, über welche Adipositas-assoziierten Mechanismen die NK-Zell-Dysfunktion bei Fettleibigkeit vermittelt wird. Denkbar wären zum einen nutritive Faktoren, wie eine erhöhte Energie- oder Fettaufnahme, eine erhöhte Aufnahme gesättigter Fettsäuren oder Ballaststoffmangel, die direkt oder indirekt Einfluss auf die Funktionalität von NK-Zellen nehmen. So konnte beispielsweise nachgewiesen werden, dass eine Reduktion der Gesamtfettaufnahme sowie einzelne Fettsäuren die NK-Zell-Aktivität beeinflussen können (Calder et al. 2002). Zum anderen wurde gezeigt, dass körperliche Inaktivität auch unabhängig von metabolische Faktoren mit einer verminderten NK-Zell-Funktionalität assoziiert sein kann (Jung et al. 2018). Weiterhin kommen Adipositas-assoziierte metabolische Veränderungen, wie Störungen der Adipozytokinfreisetzung, Hyperglykämie oder das chronisch-geringgradige Inflammationsgeschehen als Vermittler der NK-Zell-Dysfunktion in Frage.

Anhand von Studien unserer Arbeitsgruppe zur Fütterung einer Hochfettdiät und Analyse von NK-Zell-Parametern an C57BL/6- und BALB/c-Mäusen wurde untersucht, inwieweit die Veränderungen von NK-Zellen eher durch direkte Effekte der Hochfettdiät oder durch das Adipositas-assoziierte metabolische Profil bedingt sind. Bei Adipositas-anfälligen C57BL/6-Mäusen wurde nach Fütterung einer Hochfettdiät eine Erhöhung von Körpergewicht und Fettmasse bei gleichzeitiger Veränderung von Anzahl, Frequenz, Phänotyp und Zytotoxizität nachgewiesen (Spielmann et al. 2020b). Trotz gleicher Diätzusammensetzung und Fütterungsdauer wurde im Gegensatz dazu bei Adipositas-resistenten BALB/c-Mäusen kein Einfluss auf Körpergewicht, Fettmasse und NK-Zell-Parameter festgestellt (Spielmann et al. 2021). Daraus kann geschlossen werden, dass weniger spezielle nutritive Faktoren der Hochfettdiät sondern vielmehr Adipositas-assoziierte metabolische Veränderungen zur NK-Zell-Dysfunktion führen.

Michelet *et al.* zeigten, dass Adipositas mit einer Akkumulation von Lipiden in NK-Zellen einhergeht. Diese Lipidakkumulation bewirkt in der NK-Zelle schwere metabolische Dysfunktionen, wie Störungen der Glykolyse und IFN- γ -Sekretion, wodurch eine effektive

Tumorabwehr behindert werden kann (Michelet et al. 2018). Eine exzessive Körperfettakkumulation bei Adipositas geht zudem mit einer gestörten Freisetzung von Adipozytokinen, wie Leptin, Adiponektin und Östrogenen, aus dem Fettgewebe einher. In eigenen Untersuchungen an humanen NK-Zellen wurde gezeigt, dass Leptin zu einer signifikanten Reduktion der IFN- γ -Sekretion, Zytotoxizität und Expression der aktivierenden NK-Zell-Rezeptoren NKp46 und NKG2D führt (Bähr et al. 2017). Da die Freisetzung und Plasmakonzentration von Leptin bei Fettleibigkeit erhöht ist, könnte dieses Adipozytokin eine Rolle in der Vermittlung der Adipositas-assoziierten NK-Zell-Dysfunktion spielen. Neben Studien zu Leptin existieren zahlreiche weitere *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen die zeigen, dass auch Östrogene, IL-6 und Adiponektin Einfluss auf NK-Zellen nehmen können (Bähr et al. 2020). Insgesamt sind die erhobenen Daten dazu jedoch bislang uneinheitlich, sodass die Bedeutung von Adipozytokinen für die NK-Zell-Funktionalität in weiteren Studien analysiert und spezifiziert werden muss. Zudem bieten sich zukünftig Versuche mit Inkubation von NK-Zellen mit einem Gemisch aus Adipositas-beeinflussten Adipozytokinen an, um die *in vivo*-Situation adäquat nachzustellen und mögliche kumulative Effekte einzelner Adipozytokine abbilden zu können.

Im Rahmen weiterer Versuche unserer Arbeitsgruppe wurde mittels durchflusszytometrischer Analysen an humanen PBMCs untersucht, welchen Einfluss Adipositas auf Komponenten der verschiedenen Tötungsmechanismen von NK-Zellen nehmen. Es konnten keine BMI-abhängigen Veränderungen der Granzym A-, Granzym B- oder Perforin-Expression festgestellt werden, sodass die Granula-abhängige Zelllyse offenbar nicht durch Adipositas beeinflusst wird (Naujoks et al. 2020). Hingegen war – in Übereinstimmung mit früheren Daten von Laue *et al.* – die Expression des Todesrezeptor-Liganden TRAIL bei adipösen gegenüber normalgewichtigen Individuen signifikant reduziert (Laue et al. 2015, Naujoks et al. 2020). Diese Erkenntnisse lassen vermuten, dass die verminderte NK-Zell-Zytotoxizität bei Adipositas durch Störungen der Todesliganden-induzierten Zelllyse, nicht jedoch der Granula-abhängigen Zytotoxizität, bedingt ist.

3.4 Einfluss Adipositas-assoziiierter NK-Zell-Dysfunktion auf Entstehung und Wachstum von Kolonkarzinomen

Erstmalig konnten eigene in *vitro*-Untersuchungen nachweisen, dass eine Stimulation von humanen NK-Zellen mit dem Adipozytokin Leptin zu einer signifikanten Reduktion der Zytotoxizität gegenüber humanen DLD-1-Kolonkarzinomzellen führt (Bähr et al. 2017). Die Ergebnisse zeigten jedoch auch, dass die Lyserate bei Verwendung von NK-92-Zellen und primären NK-Zellen als Effektorzellen unterschiedlich hoch ist. Damit wird deutlich, dass bei Zytotoxizitätsmessungen nicht nur die Herkunft der Zielzelle, sondern auch der Effektorzelle, sorgsam bedacht und diskutiert werden muss. Darüber hinaus haben Tierversuche der eigenen Arbeitsgruppe belegt, dass NK-Zellen Diät-induziert adipöser C57BL/6-Mäuse eine signifikant verringerte zytotoxische Aktivität gegenüber murinen CT26-Kolonkarzinomzellen aufweisen (Spielmann et al. 2020b). Weiterhin weisen humane NK-Zellen von Übergewichtigen und adipösen Blutspendern eine signifikant reduzierte Zytotoxizität gegenüber humanen DLD-1-Kolonkarzinomzellen auf (Naujoks et al. 2020). Diese Daten lassen vermuten, dass eine Abwehr von Kolontumorzellen durch NK-Zellen bei Übergewicht und Adipositas eingeschränkt ist.

Eigene *in vivo*-Versuche konnten erstmals Störungen von NK-Zell-Parametern bei adipösen Ratten mit Kolonkarzinom belegen. Fettleibige Wistar-Ratten wiesen eine Erhöhung von Anzahl, Größe und Gewicht der Kolontumoren sowie eine höhere Rate an malignen Kolontumoren (Adenokarzinome) als an benignen Kolontumoren (Adenomen) auf. Dies ging mit einer verringerten NK-Zell-Anzahl in Milz, Leber und Kolontumorgewebe sowie einer verminderten Expression aktivierender NK-Zell-Rezeptoren in Milz und Leber einher (Bähr et al. 2017, Bähr et al. 2021). In Übereinstimmung konnten Mariani *et al.* auch im gesunden Kolongewebe adipöser Menschen gegenüber normalgewichtigen Personen eine verminderte Anzahl an NK-Zellen nachweisen (Mariani et al. 2013). Zudem zeigten Analysen an humanen NKG2D-Genotypen, dass Menschen mit einem NKG2D-Genotyp, der mit hoher NK-Zell-Aktivität assoziiert ist, ein reduziertes Risiko haben, Kolontumore zu entwickeln (Furie et al. 2008). Damit wird deutlich, dass die Adipositas-bedingten Störungen von NK-Zellen mit einer verminderten Tumorabwehr einhergehen und eine Ursache für das erhöhte Kolontumorrisiko bei Fettleibigkeit sind.

Inwieweit die Kenntnisse aus dem Tiermodell auch auf Patienten mit kolorektalem Karzinom übertragbar sind, muss in zukünftigen Studien an humanen Proben untersucht werden. Hier wäre die Analyse von NK-Zell-Subpopulationen, Expression funktioneller NK-Zell-Rezeptoren

sowie der Zytokinfreisetzung und zytotoxischen Aktivität von NK-Zellen sowohl im Blut als auch isoliert aus kolorektalem Tumorgewebe normalgewichtiger und adipöser Patienten fundamental, um die Bedeutung der Adipositas-bedingten NK-Zell-Dysfunktion für die Entwicklung von kolorektalen Karzinomen näher zu charakterisieren.

Neben den beschriebenen Untersuchungen zum kolorektalen Karzinom zeigen weitere Studien, dass auch bei anderen Tumorentitäten, wie bei Mamma-, Pankreas- oder ösophagogastrischen Karzinomen, Adipositas-assoziierte Veränderungen an NK-Zellen eine Rolle für Tumorentstehung und Tumorstadium spielen (Spielmann et al. 2017, Kaur et al. 2018, Spielmann et al. 2020a, Mylod et al. 2021). Abbildung 3 zeigt eine schematische Abbildung zum Zusammenhang der gestörten NK-Zell-Funktionalität und dem erhöhten Tumorrisiko bei Adipositas.

In zahlreichen grundlegenden Untersuchungen und klinischen Studien wurde in der Vergangenheit gezeigt, dass NK-Zellen ein großes Potential für Immuntherapien bei Tumorerkrankungen haben (Boudreau und Hsu 2018). Neben der Gabe NK-Zell-stimulierender Zytokine wurden Krebspatienten mit Antikörpern gegen inhibitorische NK-Zell-Rezeptoren oder Agonisten aktivierender NK-Zell-Rezeptoren behandelt, um die Anzahl und Funktionalität von NK-Zellen zu erhöhen. Zudem haben adoptive Immuntherapien mit allogenen peripheren NK-Zellen, aus Stammzellen gewonnenen NK-Zellen oder verschiedenen NK-Zelllinien vielversprechende Ergebnisse in der Tumorthherapie geliefert, während der adoptive Transfer autologer NK-Zellen nur geringe klinische Effekte zeigte (Fang et al. 2017, Simonetta et al. 2017, Hu et al. 2019). Trotz der großen Anzahl an vorklinischen und klinischen Studien zur NK-Zell-basierten Immuntherapie gibt es bislang keine Daten zu möglichen Einflüssen auf Therapieeffekte, wenn bei Spender oder Empfänger Übergewicht oder Adipositas vorliegen. In Kenntnis, dass Adipositas mit Veränderungen in Phänotyp und Funktionalität von NK-Zellen einhergeht, kann vermutet werden, dass ein adoptiver Transfer von NK-Zellen in adipöse Tumorpatienten oder die Verwendung isolierter NK-Zellen aus adipösen Spendern für Immuntherapien möglicherweise zu verringerten Therapieeffekten führt.

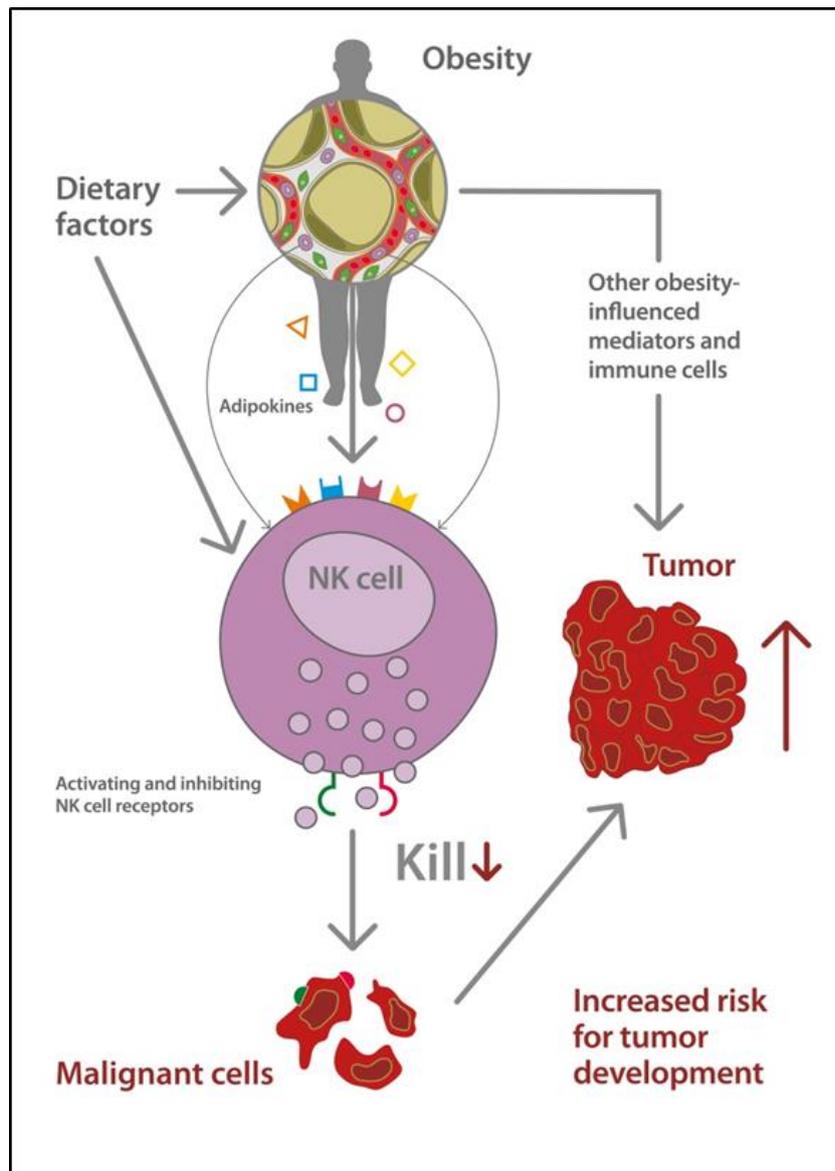


Abbildung 3: Schematische Darstellung zur Bedeutung einer Dysfunktion von Natürlichen Killer (NK)-Zellen für das erhöhte Tumorrisiko bei Adipositas. Ernährungsfaktoren, wie erhöhte Energieaufnahme oder die erhöhte Aufnahme gesättigter Fettsäuren, führen zu Übergewicht und Adipositas und nehmen zudem direkten Einfluss auf die NK-Zell-Funktionalität. Adipositas geht mit einer übermäßigen Zunahme des Fettgewebes sowie einer gestörten Sekretion von Adipozytokinen, wie Leptin (Δ), Adiponektin (\square), Interleukin-6 (\circ) und Östrogenen (\diamond) einher. Das Adipositas-bedingte metabolische Milieu führt zu einer gestörten NK-Zell-Funktion mit Ungleichgewicht der Expression aktivierender und inhibierender NK-Zell-Rezeptoren sowie Liganden von NK-Zell-Rezeptoren (\blacktriangleright , \blacktriangleleft) auf Tumorzellen. Diese NK-Zell-Dysfunktion geht mit einer verminderten Zytotoxizität gegenüber malignen Zellen und einem erhöhten Risiko für die Tumorentstehung einher (Bähr et al. 2020).

Verschiedene Studien haben belegt, dass Adipositas nicht nur das Risiko für verschiedene Tumorerkrankungen erhöht, sondern auch mit einer erhöhten Anfälligkeit und einem schwereren Krankheitsverlauf bei virusbedingten Infektionserkrankungen, wie Infektionen mit Influenza A oder SARS-CoV-2, einhergeht (Louie et al. 2011, Petrakis et al. 2020). Bislang bleibt unklar, inwieweit Adipositas-bedingte Störungen von NK-Zellen zum erhöhten Risiko für Virusinfektionen bei Fettleibigkeit beitragen.

Abwehrreaktionen der NK-Zellen spielen vor allem in der frühen Immunantwort gegen die Tumorentstehung eine bedeutende Rolle. Darüber hinaus zeigen NK-Zellen auch die Fähigkeit, die Entstehung und das Wachstum von Metastasen vorzubeugen (Smyth et al. 2001, Malaisé et al. 2014). So konnte eine verminderte NK-Zell-Aktivität als negativer prognostischer Faktor für die Entstehung von Metastasen bei Patienten mit kolorektalem Karzinom beschrieben werden (Kondo et al. 2003). Zukünftige Untersuchungen zum Einfluss der Adipositas-assoziierten Dysfunktion von NK-Zellen auf das Metastasierungsgeschehen sind zwingend nötig.

Neben der NK-Zell-Dysfunktion werden weitere Faktoren diskutiert, die bei Adipositas zu einem erhöhten Risiko für bestimmte Tumorentitäten führen. So können beispielsweise Störungen der Adipozytokinfreisetzung oder ein chronisches geringgradiges Entzündungsgeschehen die Tumorgenese bei Fettleibigkeit fördern. Auch die Funktionalität von T-Zellen ist bei Adipositas gestört, was mit einer verminderten spezifischen Tumorzellabwehr einhergehen kann (Aguilar und Murphy 2018). Damit wird deutlich, dass der Einfluss von Adipositas-assoziierten Veränderungen in Immunsystem und Metabolismus auf die Tumorgenese multifaktoriell bedingt ist und nicht ein einzelner Parameter, wie die NK-Zell-Dysfunktion, verantwortlich für das erhöhte Tumorrisiko bei Fettleibigkeit ist.

Stein *et al.* konnten MACC1 als aussagekräftigen, molekularen Marker für die Prognose der Metastasierung bei kolorektalem Karzinom identifizieren (Stein et al. 2012, Koelzer et al. 2015). Frühere Studien haben gezeigt, dass die MACC1-Expression in Plasma und Tumorgewebe von Patienten mit kolorektalen Tumoren signifikant höher ist als bei gesunden Probanden (Stein et al. 2009, Lin et al. 2019). Bislang wurden bei diesen Untersuchungen Körpergewicht, BMI oder Fettmasse nicht berücksichtigt. Die aktuellen Analysen an humanen Proben zur MACC1-Expression in Abhängigkeit von BMI und Fettmasse zeigen, dass der molekulare Marker bei hohem BMI und erhöhter Fettmasse verstärkt exprimiert wird (Bähr et al. 2022). Wenn auch die Ergebnisse der humanen Daten knapp das Signifikanzniveau

verfehlten, ist aufgrund der gemessenen Expressionsunterschiede anzunehmen, dass MACC1 eine Bedeutung für das Adipositas-induzierte Tumorgeschehen hat. Interessanterweise konnten bei Diät-induziert adipösen Ratten im Vergleich zu normalgewichtigen Ratten mit AOM-induzierten Kolontumoren signifikant höhere Plasma-MACC1-Konzentrationen detektiert werden (Bähr et al. 2022). Diese Daten deuten darauf hin, dass Adipositas vor allem bei bereits bestehender Tumorerkrankung Einfluss auf MACC1 nimmt und damit möglicherweise das Metastasierungsgeschehen beeinflusst werden kann. Kobelt *et al.* haben gezeigt, dass die pro-inflammatorischen Zytokine TNF- α und IFN- γ das Tumorwachstum und die Metastasierung über eine Induktion der MACC1-Expression fördern (Kobelt et al. 2020). Somit könnte der Anstieg der MACC1-Expression bei Fettleibigkeit durch die Adipositas-assoziierte geringgradige chronische Entzündung bedingt sein.

3.5 Einfluss von Nahrungsrestriktion und Gewichtsreduktion auf die Reaktivierung dysfunktionaler NK-Zellen

Neben den Erkenntnissen zur gestörten NK-Zell-Physiologie bei Adipositas gab es in der Vergangenheit einige Untersuchungen, in denen die Auswirkungen von Gewichtsreduktion durch kalorische Restriktion oder bariatrische Chirurgie oder auch körperliche Aktivität auf NK-Zellen untersucht wurden. Frühe Studien mit Reduzierung der Gesamtenergiezufuhr oder Applikation einer fettreduzierten Diät konnten bei adipösen Ratten oder Menschen sowie bei normalgewichtigen Menschen eine Erhöhung der NK-Zell-Zytotoxizität gegenüber der Kontrollgruppe aufzeigen (Wing et al. 1983, Barone et al. 1989, Lamas et al. 2004). Zudem konnten Clinthorne *et al.* nachweisen, dass eine kalorische Restriktion bei normalgewichtigen Mäusen mit einer erhöhten Expression der Aktivierungs-assoziierten Rezeptoren CD69 und B220 sowie mit einer verstärkten Sekretion von TNF- α und GM-CSF einhergeht (Clinthorne et al. 2013). Ergebnisse einer Studie an postmenopausalen Frauen zeigte, dass eine Gewichtsstabilität und das Verhindern häufiger Zu- und Abnahmen des Körpergewichts mit einer erhöhten lytischen Aktivität von NK-Zellen gegen Tumorzellen assoziiert ist (Shade et al. 2004). Diese Daten deuten darauf hin, dass häufige gezielte Gewichtsreduktionen mit anschließend erneuter Gewichtszunahme (beschrieben als „Jo-Jo-Effekt“) die NK-Zell-Funktionen negativ beeinflussen könnten. In unseren Versuchen an C57BL/6-Mäusen konnten wir erstmals zeigen, dass bereits eine moderate Restriktion der Menge einer hochkalorischen, fettreichen Diät die Adipositas-assoziierten Veränderungen von NK-Zellen teilweise verhindern kann (Spielmann et al. 2021).

Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass die Verwendung verschiedener Mausstämme oder unterschiedlicher Geschlechter der Versuchstiere nicht nur zu Varianzen in Körpergewicht, Fettmasse oder metabolischen Faktoren führen kann, sondern auch Einfluss auf die Funktionalität von Immunzellen nimmt (West et al. 1992, Goren et al. 2004, Nishikawa et al. 2007, Jovicic et al. 2015). In Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe konnten Unterschiede in der Auswirkung eines restriktiven Fütterungsregimes zwischen C57BL/6- und BALB/c-Mäusen festgestellt werden. Während bei Versuchen an C57BL/6-Mäusen mit Fütterung einer normokalorischen Diät keine Effekte durch Restriktion der Futtermenge auf NK-Zell-Parameter festgestellt wurden, wiesen BALB/c-Mäuse mit restriktiver Fütterung einer normokalorischen Diät im Vergleich zu *ad libitum*-gefütterten Kontrolltieren signifikante Veränderungen in der Frequenz von NK-Zell-Subpopulationen sowie der Expression von Reifungsmarkern auf NK-Zellen auf (Spielmann et al. 2020b, Spielmann et al. 2021). Damit wird deutlich, dass Auswirkungen von verschiedenen Diäten und Fütterungsregimes auf NK-Zellen abhängig vom Mausstamm sein können. Zudem könnten die Diskrepanzen zwischen Versuchen an männlichen C57BL/6 und weiblichen BALB/c durch geschlechtsspezifische Unterschiede, wie Variationen der Konzentration von Geschlechtshormonen oder Abweichungen in der Körperfettmasse bedingt sein. Bei der Auswahl geeigneter Mausstämme für zukünftige Untersuchungen sollte demnach Stamm und Geschlecht der Versuchstiere sorgfältig bedacht werden. Weiterhin könnten zusätzliche Studien mit Reduktion der Futtermenge um 20 bis 50 % im Vergleich zur *ad-libitum*-Kontrollgruppe Aufschluss über die Wirkung einer intensivierten Futterrestriktion auf Körpergewicht, Fettmasse und NK-Zell-Funktionalität bei Adipositas-anfälligen und Adipositas-resistenten Versuchstieren geben.

Neben Versuchen mit diätetischen Einschränkungen der Energie- und Fettaufnahme bei Mäusen wurden durch Moulin *et al.* auch Effekte auf NK-Zellen nach bariatrischer Chirurgie beim Menschen beschrieben. Der Verlust von Körpergewicht und Fettmasse bei Patienten mit krankhafter Adipositas sechs Monate nach einer Roux Y-Magenbypass-Operation war mit einer deutlichen Erhöhung der Zytotoxizität und Zytokinsekretion von NK-Zellen assoziiert (Moulin et al. 2011).

Sportliche Aktivität ist eine bedeutende und kostengünstige Präventionsmaßnahme, um Übergewicht und Adipositas zu vermeiden. Zudem ist körperliche Aktivität eine effektive Intervention, um Körpergewicht und Fettmasse sowie das Risiko für Folgeerkrankungen bei Adipositas zu reduzieren. In den vergangenen Jahrzehnten konnten zahlreiche Studien an Mäusen und Menschen belegen, dass die Anzahl und Zytotoxizität von NK-Zellen im Blut

während und nach moderaten oder intensiven Trainingseinheiten signifikant erhöht ist (Fiatarone et al. 1989, Nieman et al. 1993, Wasinski et al. 2013, Pedersen et al. 2016, Barra et al. 2017). Dieser Effekt konnte bei verschiedensten Sportarten, wie Walken, Joggen, Marathon, Radsport oder Aerobic, nachgewiesen werden. Zudem wurde eine Aktivierung von NK-Zellen sowohl bei akuten Trainingsprogrammen als auch bei experimentellen Ansätzen mit langfristiger Sportintervention belegt. Zumeist wurde ein akut stimulierender Effekt der körperlichen Aktivität auf NK-Zellen während oder direkt nach der Trainingseinheit gezeigt, gefolgt von einem Abfall auf basale Messwerte nach wenigen Stunden (Fiatarone et al. 1989, Kappel et al. 1991, Nieman et al. 1993, Wang und Weng 2011). Es wird vermutet, dass der Anstieg der NK-Zellzahl im Blut bei erhöhter körperlicher Bewegung durch eine rasche Mobilisierung gewebeständiger NK-Zellen in die Blutbahn bedingt ist; möglicherweise ausgelöst durch eine Aktivierung der Freisetzung verschiedener Zytokine, wie IL-6, IL-7 oder IL-15, aus Muskelzellen (Gabriel et al. 1992, Nielsen et al. 1996, Schwindt et al. 2007, Millard et al. 2013). Neben Einflüssen von sportlicher Aktivität auf die NK-Zellzahl und die zytolytische NK-Zell-Aktivität konnte auch eine erhöhte Expression von CD107a und der aktivierenden NK-Zell-Rezeptoren CD69 und NKG2D sowie eine verstärkte intrazelluläre Expression von IFN- γ , Perforin und Granzym B nachgewiesen werden (Wang und Weng 2011, Moro-García et al. 2014, Zimmer et al. 2015). Auch Einflüsse auf die Frequenz von NK-Zell-Subpopulationen und Reifungsmarker durch körperliches Training wurden beschrieben (Suzui et al. 2004, Kakanis et al. 2010, Wang und Weng 2011, Pedersen et al. 2016).

In unserer Arbeitsgruppe wurde eine Studie an adipösen Probandinnen und Probanden durchgeführt, bei der erstmals der Einfluss einer Gewichtsreduktion durch Kombination von sportlicher Aktivität und diätetischer Intervention auf NK-Zellen untersucht wurde. Die weiblichen Studienteilnehmerinnen erzielten keine signifikanten Effekte bezüglich Körpergewicht, Fettmasse und NK-Zell-Parameter. Bei den männlichen Probanden konnte hingegen gezeigt werden, dass eine signifikante Reduktion von Körpergewicht und Fettmasse mit einer starken Erhöhung der IFN- γ -Expression in der CD56^{dim}-NK-Zell-Subpopulation einhergeht (Jahn et al. 2015). Die Ergebnisse dieser Studie belegen zum einen, dass bereits eine Lebensstil-Intervention mit moderater körperlicher Aktivität und Ernährungsberatung zur Verbesserung der NK-Zell-Funktionalität führen kann. Zum anderen wird durch die unterschiedlichen Ergebnisse zwischen männlichen und weiblichen Probanden deutlich, dass die Effekte der Intervention auf NK-Zellen mit der Veränderung von Körpergewicht und Fettmasse assoziiert und nicht allein auf direkte Trainingseffekte zurückzuführen sind. Zukünftig

sind weitere Studien mit einer erhöhten Probandenanzahl und einer längeren Studiendauer nötig, um die positiven Effekte von Ernährungs- und Sportintervention bei Adipositas auf NK-Zellen hinreichend zu analysieren. Insgesamt liefern die bisherigen Erkenntnisse überzeugende Belege für eine stimulierende Wirkung von Gewichtsreduktion und körperlicher Aktivität auf NK-Zellen.

Bislang gibt es kaum Studien, die den Effekt von sportlicher Betätigung auf NK-Zellen im Zusammenhang mit der Entstehung von Tumorerkrankungen untersuchen. Ein Versuch an Mäusen zeigte nach freiwilliger Laufradnutzung eine verstärkte NK-Zell-Infiltration in Tumorgewebe der Lunge, was mit einem verminderten Wachstum von Lungentumoren einher ging (Pedersen et al. 2016). Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Infiltration von NK-Zellen in das Tumorgewebe durch eine erhöhte Freisetzung von IL-6 nach körperlicher Aktivität induziert wird. Weiterhin bewirkte die freiwillige Laufradnutzung im Tumorgewebe durch erhöhte Expression NK-Zell-aktivierender Liganden und eine verstärkte Sekretion stimulatorischer Zytokine und Chemokine ein NK-Zell-aktivierendes Milieu (Pedersen et al. 2016). Auch in einer Studie von Barra *et al.* an adipösen Mäusen wurde gezeigt, dass hochintensives Intervalltraining zur Erhöhung von Zellanzahl und Aktivierungsstatus von NK-Zellen führt, was mit einer reduzierten Tumormasse im Lungengewebe assoziiert war (Barra et al. 2017). Inwieweit eine Aktivierung von NK-Zellen durch körperliche Aktivität zur Reduktion der Anfälligkeit gegenüber virusbedingten Erkrankungen und zur Reduktion des Tumorrisikos bei normalgewichtigen, übergewichtigen und adipösen Individuen beiträgt, bleibt Gegenstand zukünftiger Untersuchungen.

Insgesamt zeigen die Daten, dass sowohl durch Gewichtsreduktion als auch durch körperliche Aktivität die NK-Zell-Funktionalität positiv beeinflusst werden kann. Damit kann eine Lebensstil-Intervention mit Ernährungsumstellung und erhöhter sportlicher Betätigung bei Adipositas über die Modulierung von NK-Zellen zur Prävention von Tumorerkrankungen beitragen.

3.6 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse dieser Arbeiten konnten zeigen, dass Adipositas sowohl bei Nagern als auch beim Menschen mit signifikanten Veränderungen von Anzahl, Frequenz, Verteilung der Subpopulationen und Expression verschiedener funktioneller Rezeptoren bei NK-Zellen einhergeht. Dabei spielen Adipositas-medierte Veränderungen der Freisetzung von Adipozytokinen eine bedeutende Rolle in der Vermittlung der NK-Zell-Dysfunktion bei Fettleibigkeit. Weiterhin wurde nachgewiesen, dass die zytotoxische Aktivität von NK-Zellen gegenüber Kolonkarzinomzellen bei Übergewicht und Adipositas signifikant reduziert ist. Diese verminderte NK-Zell-Zytotoxizität bei Adipositas ist offenbar bedingt durch Störungen der Todesliganden-induzierten Zellyse. Im Tierversuch waren Funktionsverluste von NK-Zellen bei adipösen Ratten mit einem erhöhten Kolontumorrisiko assoziiert. Diese Daten zeigen, dass die NK-Zell-Dysfunktion neben anderen Faktoren zu einem erhöhten Kolontumorrisiko und einem schwereren Verlauf der Tumorerkrankung bei Adipositas beiträgt. Zukünftige Studien sind nötig, um die relevantesten Störungen von Rezeptoren und Signalkaskaden bei NK-Zellen von adipösen Individuen zu spezifizieren und um mögliche therapeutische Zielstrukturen zu identifizieren.

Adipositas stellt einen der bedeutendsten vermeidbaren Risikofaktoren für die Entstehung von Kolonkarzinomen dar. Die Ergebnisse dieser Arbeit belegen, dass Adipositas-assoziierte NK-Zell-Dysfunktionen bereits durch moderate Lebensstil-Interventionen, wie geringer Reduktion der Energieaufnahme oder leichter körperlicher Aktivität und Ernährungsumstellung, teilweise aufgehoben werden können. Inwieweit eine Reaktivierung von NK-Zellen durch Gewichtsreduktion und erhöhte körperliche Aktivität zur Prävention von kolorektalen Tumorerkrankungen beitragen kann bleibt Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Immuntherapien mit NK-Zellen sind eine vielversprechende Komponente moderner onkologischer Therapiekonzepte. Die Daten dieser Arbeit deuten darauf hin, dass BMI und Körperfettmasse des NK-Zell-Spenders vermutlich Einfluss auf die Erfolgsrate bei NK-Zell-Immuntherapien nehmen könnte. Somit sind zukünftige Studien zum Einfluss von Adipositas bei Spender und Empfänger von NK-Zellen im Rahmen von Immuntherapien von hohem klinischen Interesse.

4 Literaturverzeichnis

- Abel, Alex M.; Yang, Chao; Thakar, Monica S.; Malarkannan, Subramaniam (2018): Natural Killer Cells: Development, Maturation, and Clinical Utilization. In: *Frontiers in immunology* 9, S. 1869. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01869.
- Ackerman, Sarah E.; Blackburn, Olivia A.; Marchildon, François; Cohen, Paul (2017): Insights into the Link Between Obesity and Cancer. In: *Current obesity reports* 6 (2), S. 195–203. DOI: 10.1007/s13679-017-0263-x.
- Afshin, Ashkan; Forouzanfar, Mohammad H.; Reitsma, Marissa B.; Sur, Patrick; Estep, Kara; Lee, Alex et al. (2017): Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. In: *The New England journal of medicine* 377 (1), S. 13–27. DOI: 10.1056/NEJMoa1614362.
- Aguilar, Ethan G.; Murphy, William J. (2018): Obesity induced T cell dysfunction and implications for cancer immunotherapy. In: *Current Opinion in Immunology* 51, S. 181–186. DOI: 10.1016/j.coi.2018.03.012.
- Alter, Galit; Malenfant, Jessica M.; Altfeld, Marcus (2004): CD107a as a functional marker for the identification of natural killer cell activity. In: *Journal of immunological methods* 294 (1-2), S. 15–22. DOI: 10.1016/j.jim.2004.08.008.
- Alwarawrah, Yazan; Kiernan, Kaitlin; MacIver, Nancie J. (2018): Changes in Nutritional Status Impact Immune Cell Metabolism and Function. In: *Frontiers in immunology* 9, S. 1055. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01055.
- Amlca-Seba, Katyana; Sabbah, Michèle; Larsen, Annette K.; Denis, Jérôme A. (2021): Osteopontin as a Regulator of Colorectal Cancer Progression and Its Clinical Applications. In: *Cancers* 13 (15), S. 3793. DOI: 10.3390/cancers13153793.
- Bähr, Ina; Goritz, Vincent; Doberstein, Henriette; Hiller, Grit Gesine Ruth; Rosenstock, Philip; Jahn, Janine et al. (2017): Diet-Induced Obesity Is Associated with an Impaired NK Cell Function and an Increased Colon Cancer Incidence. In: *Journal of nutrition and metabolism* 2017, S. 4297025. DOI: 10.1155/2017/4297025.
- Bähr, Ina; Jaeschke, Lina; Nimptsch, Katharina; Janke, Jürgen; Herrmann, Pia; Kobelt, Dennis et al. (2022): Obesity, colorectal cancer and MACC1 expression: A possible novel molecular association. In: *International journal of oncology* 60 (2). DOI: 10.3892/ijo.2022.5307.
- Bähr, Ina; Jahn, Janine; Zipprich, Alexander; Pahlow, Inge; Spielmann, Julia; Kielstein, Heike (2018): Impaired natural killer cell subset phenotypes in human obesity. In: *Immunologic research* 66 (2), S. 234–244. DOI: 10.1007/s12026-018-8989-4.
- Bähr, Ina; Pörtner, O. J.; Glass, Markus; Doberstein, Henriette; Goritz, Vincent; Hiller, Grit Gesine Ruth et al. (2021): Characterization of natural killer cells in colorectal tumor tissue of rats fed a control diet or a high-fat diet. In: *Annals of anatomy = Anatomischer Anzeiger : official organ of the Anatomische Gesellschaft* 233, S. 151586. DOI: 10.1016/j.aanat.2020.151586.
- Bähr, Ina; Spielmann, Julia; Quandt, Dagmar; Kielstein, Heike (2020): Obesity-Associated Alterations of Natural Killer Cells and Immunosurveillance of Cancer. In: *Frontiers in immunology* 11, S. 245. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00245.
- Barone, J.; Hebert, J. R.; Reddy, M. M. (1989): Dietary fat and natural-killer-cell activity. In: *The American journal of clinical nutrition* 50 (4), S. 861–867. DOI: 10.1093/ajcn/50.4.861.
- Barra, Nicole G.; Fan, Isabella Y.; Gillen, Jenna B.; Chew, Marianne; Marcinko, Katarina; Steinberg, Gregory R. et al. (2017): High Intensity Interval Training Increases Natural Killer Cell Number and Function in Obese Breast Cancer-challenged Mice and Obese Women. In: *Journal of cancer prevention* 22 (4), S. 260–266. DOI: 10.15430/JCP.2017.22.4.260.
- Behrendt, Patrick; Buchenauer, Tobias; Horn, Rüdiger; Brabant, Georg; Jacobs, Roland; Bode, Felix et al. (2010): Diet-induced obesity, exogenous leptin-, and MADB106 tumor cell challenge affect tissue leukocyte distribution and serum levels of cytokines in F344 rats. In: *Endocrine* 38 (1), S. 104–112. DOI: 10.1007/s12020-010-9358-9.
- Berg, S. F.; Dissen, E.; Westgaard, I. H.; Fossum, S. (1998): Molecular characterization of rat NKR-P2, a lectin-like receptor expressed by NK cells and resting T cells. In: *International immunology* 10 (4), S. 379–385. DOI: 10.1093/intimm/10.4.379.
- Berger, Nathan A. (2014): Obesity and cancer pathogenesis. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 1311, S. 57–76. DOI: 10.1111/nyas.12416.
- Biassoni, R.; Cantoni, Claudia; Marras, D.; Giron-Michel, J.; Falco, Michela; Moretta, L.; Dimasi, N. (2003): Human natural killer cell receptors: insights into their molecular function and structure. In: *Journal of cellular and molecular medicine* 7 (4), S. 376–387. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2003.tb00240.x.
- Biassoni, Roberto; Cantoni, Claudia; Pende, Daniela; Sivori, Simona; Parolini, Silvia; Vitale, Massimo et al. (2001): Human natural killer cell receptors and co-receptors. In: *Immunological reviews* 181 (1), S. 203–214. DOI: 10.1034/j.1600-065X.2001.1810117.x.

- Birkner, B. R. (2003): Evidenz-basierte Prävention des kolorektalen Karzinoms. In: *Dtsch med Wochenschr* 128 (49), S. 2598–2603. DOI: 10.1055/s-2003-45207.
- Björkström, Niklas K.; Ljunggren, Hans-Gustaf; Michaëlsson, Jakob (2016): Emerging insights into natural killer cells in human peripheral tissues. In: *Nature reviews. Immunology* 16 (5), S. 310–320. DOI: 10.1038/nri.2016.34.
- Borrego, Francisco; Masilamani, Madhan; Marusina, Alina I.; Tang, Xiaobin; Coligan, John E. (2006): The CD94/NKG2 Family of Receptors: From Molecules and Cells to Clinical Relevance. In: *IR* 35 (3), S. 263–278. DOI: 10.1385/IR:35:3:263.
- Boudreau, Jeanette E.; Hsu, Katharine C. (2018): Natural Killer Cell Education and the Response to Infection and Cancer Therapy: Stay Tuned. In: *Trends in immunology* 39 (3), S. 222–239. DOI: 10.1016/j.it.2017.12.001.
- Braud, V. M.; Allan, D. S.; O'Callaghan, C. A.; Söderström, K.; D'Andrea, A.; Ogg, G. S. et al. (1998): HLA-E binds to natural killer cell receptors CD94/NKG2A, B and C. In: *Nature* 391 (6669), S. 795–799. DOI: 10.1038/35869.
- Bray, Freddie; Ferlay, Jacques; Soerjomataram, Isabelle; Siegel, Rebecca L.; Torre, Lindsey A.; Jemal, Ahmedin (2018): Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. In: *CA: a cancer journal for clinicians* 68 (6), S. 394–424. DOI: 10.3322/caac.21492.
- Bryceson, Yenan T.; March, Michael E.; Ljunggren, Hans-Gustaf; Long, Eric O. (2006): Activation, coactivation, and costimulation of resting human natural killer cells. In: *Immunological reviews* 214, S. 73–91. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2006.00457.x.
- Calder, P. C.; Yaqoob, P.; Thies, F.; Wallace, F. A.; Miles, E. A. (2002): Fatty acids and lymphocyte functions. In: *Br J Nutr* 87 Suppl 1 (S1), S31-48. DOI: 10.1079/BJN2001455.
- Calle, Eugenia E.; Rodriguez, Carmen; Walker-Thurmond, Kimberly; Thun, Michael J. (2003): Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. In: *The New England journal of medicine* 348 (17), S. 1625–1638. DOI: 10.1056/NEJMoa021423.
- Cao, Haiming (2014): Adipocytokines in obesity and metabolic disease. In: *The Journal of endocrinology* 220 (2), T47-59. DOI: 10.1530/JOE-13-0339.
- Cao, Yujuan; Wang, Xiaodong (2021): Effects of molecular markers on the treatment decision and prognosis of colorectal cancer: a narrative review. In: *J Gastrointest Oncol* 12 (3), S. 1191–1196. DOI: 10.21037/jgo-21-230.
- Castellana, Barbara; Perdu, Sofie; Kim, Yoona; Chan, Kathy; Atif, Jawairia; Marziali, Megan; Beristain, Alexander G. (2018): Maternal obesity alters uterine NK activity through a functional KIR2DL1/S1 imbalance. In: *Immunol Cell Biol* 96 (8), S. 805–819. DOI: 10.1111/imcb.12041.
- Castoldi, Angela; Naffah de Souza, Cristiane; Câmara, Niels Olsen Saraiva; Moraes-Vieira, Pedro M. (2015): The Macrophage Switch in Obesity Development. In: *Frontiers in immunology* 6, S. 637. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00637.
- Chaix, Amandine; Lin, Terry; Le, Hiep D.; Chang, Max W.; Panda, Satchidananda (2019): Time-Restricted Feeding Prevents Obesity and Metabolic Syndrome in Mice Lacking a Circadian Clock. In: *Cell metabolism* 29 (2), 303-319.e4. DOI: 10.1016/j.cmet.2018.08.004.
- Chan, Antoni; Hong, Deng-Li; Atzberger, Ann; Kollnberger, Simon; Filer, Andrew D.; Buckley, Christopher D. et al. (2007): CD56bright human NK cells differentiate into CD56dim cells: role of contact with peripheral fibroblasts. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 179 (1), S. 89–94. DOI: 10.4049/jimmunol.179.1.89.
- Chen, Shihao; Kawashima, Hiroto; Lowe, John B.; Lanier, Lewis L.; Fukuda, Minoru (2005): Suppression of tumor formation in lymph nodes by L-selectin-mediated natural killer cell recruitment. In: *Journal of Experimental Medicine* 202 (12), S. 1679–1689. DOI: 10.1084/jem.20051473.
- Chiappetta, Sonja; Schaack, Hannah M.; Wölnerhanssen, Bettina; Stier, Christine; Squillante, Simone; Weiner, Rudolf A. (2018): The Impact of Obesity and Metabolic Surgery on Chronic Inflammation. In: *Obesity surgery* 28 (10), S. 3028–3040. DOI: 10.1007/s11695-018-3320-y.
- Chiossone, Laura; Chaix, Julie; Fuseri, Nicolas; Roth, Claude; Vivier, Eric; Walzer, Thierry (2009): Maturation of mouse NK cells is a 4-stage developmental program. In: *Blood* 113 (22), S. 5488–5496. DOI: 10.1182/blood-2008-10-187179.
- Cildir, Gökhan; Akıncılar, Semih Can; Tergaonkar, Vinay (2013): Chronic adipose tissue inflammation: all immune cells on the stage. In: *Trends in molecular medicine* 19 (8), S. 487–500. DOI: 10.1016/j.molmed.2013.05.001.
- Claus, Maren (2008): Regulation of NK cell activity by 2B4, NTB-A and CRACC. In: *Front Biosci* 13 (13), S. 956. DOI: 10.2741/2735.
- Clinthorne, Jonathan F.; Beli, Eleni; Duriancik, David M.; Gardner, Elizabeth M. (2013): NK cell maturation and function in C57BL/6 mice are altered by caloric restriction. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 190 (2), S. 712–722. DOI: 10.4049/jimmunol.1201837.

- Collaboration, The Emerging Risk Factors (2011): Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: collaborative analysis of 58 prospective studies. In: *The Lancet* 377 (9771), S. 1085–1095. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60105-0.
- Comerci, Colin J.; Mace, Emily M.; Banerjee, Pinaki P.; Orange, Jordan S. (2012): CD2 promotes human natural killer cell membrane nanotube formation. In: *PLoS one* 7 (10), e47664. DOI: 10.1371/journal.pone.0047664.
- Cooper, Megan A.; Fehniger, Todd A.; Caligiuri, Michael A. (2001): The biology of human natural killer-cell subsets. In: *Trends in immunology* 22 (11), S. 633–640. DOI: 10.1016/s1471-4906(01)02060-9.
- Dixon, John B.; O'Brien, Paul E. (2006): Obesity and the white blood cell count: changes with sustained weight loss. In: *Obesity surgery* 16 (3), S. 251–257. DOI: 10.1381/096089206776116453.
- Donninelli, Gloria; Del Cornò, Manuela; Pierdominici, Marina; Scazzocchio, Beatrice; Vari, Rosaria; Varano, Barbara et al. (2017): Distinct Blood and Visceral Adipose Tissue Regulatory T Cell and Innate Lymphocyte Profiles Characterize Obesity and Colorectal Cancer. In: *Frontiers in immunology* 8, S. 643. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00643.
- Dowell, Alexander C.; Oldham, Kimberley A.; Bhatt, Rupesh I.; Lee, Steven P.; Searle, Peter F. (2012): Long-term proliferation of functional human NK cells, with conversion of CD56(dim) NK cells to a CD56 (bright) phenotype, induced by carcinoma cells co-expressing 4-1BBL and IL-12. In: *Cancer immunology, immunotherapy: CII* 61 (5), S. 615–628. DOI: 10.1007/s00262-011-1122-3.
- Elinav, Eran; Abd-Elnabi, Asad; Pappo, Orit; Bernstein, Itamar; Klein, Athalia; Engelhardt, Dean et al. (2006): Suppression of hepatocellular carcinoma growth in mice via leptin, is associated with inhibition of tumor cell growth and natural killer cell activation. In: *Journal of hepatology* 44 (3), S. 529–536. DOI: 10.1016/j.jhep.2005.08.013.
- Elsayed, Essam F.; Sarnak, Mark J.; Tighiouart, Hocine; Griffith, John L.; Kurth, Tobias; Salem, Deeb N. et al. (2008): Waist-to-hip ratio, body mass index, and subsequent kidney disease and death. In: *American journal of kidney diseases: the official journal of the National Kidney Foundation* 52 (1), S. 29–38. DOI: 10.1053/j.ajkd.2008.02.363.
- Fang, Fang; Xiao, Weihua; Tian, Zhigang (2017): NK cell-based immunotherapy for cancer. In: *Seminars in immunology* 31, S. 37–54. DOI: 10.1016/j.smim.2017.07.009.
- Farang, Sherif S.; Caligiuri, Michael A. (2006): Human natural killer cell development and biology. In: *Blood reviews* 20 (3), S. 123–137. DOI: 10.1016/j.blre.2005.10.001.
- Farang, Sherif S.; Fehniger, Todd A.; Ruggeri, Loredana; Velardi, Andrea; Caligiuri, Michael A. (2002): Natural killer cell receptors: new biology and insights into the graft-versus-leukemia effect. In: *Blood* 100 (6), S. 1935–1947. DOI: 10.1182/blood-2002-02-0350.
- Fauriat, Cyril; Long, Eric O.; Ljunggren, Hans-Gustaf; Bryceson, Yenan T. (2010): Regulation of human NK-cell cytokine and chemokine production by target cell recognition. In: *Blood* 115 (11), S. 2167–2176. DOI: 10.1182/blood-2009-08-238469.
- Fehniger, Todd A.; Cooper, Megan A.; Nuovo, Gerard J.; Cella, Marina; Facchetti, Fabio; Colonna, Marco; Caligiuri, Michael A. (2003): CD56bright natural killer cells are present in human lymph nodes and are activated by T cell-derived IL-2: a potential new link between adaptive and innate immunity. In: *Blood* 101 (8), S. 3052–3057. DOI: 10.1182/blood-2002-09-2876.
- Fiatarone, M. A.; Morley, J. E.; Bloom, E. T.; Benton, D.; Solomon, G. F.; Makinodan, T. (1989): The effect of exercise on natural killer cell activity in young and old subjects. In: *Journal of gerontology* 44 (2), M37-45. DOI: 10.1093/geronj/44.2.m37.
- Francisco, Vera; Pino, Jesus; Gonzalez-Gay, Miguel Angel; Mera, Antonio; Lago, Francisca; Gómez, Rodolfo et al. (2018): Adipokines and inflammation: is it a question of weight? In: *British journal of pharmacology* 175 (10), S. 1569–1579. DOI: 10.1111/bph.14181.
- Freud, Aharon G.; Caligiuri, Michael A. (2006): Human natural killer cell development. In: *Immunological reviews* 214 (1), S. 56–72. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2006.00451.x.
- Furue, Hiroki; Matsuo, Keitaro; Kumimoto, Hiroshi; Hiraki, Akio; Suzuki, Takeshi; Yatabe, Yasushi et al. (2008): Decreased risk of colorectal cancer with the high natural killer cell activity NKG2D genotype in Japanese. In: *Carcinogenesis* 29 (2), S. 316–320. DOI: 10.1093/carcin/bgm260.
- Gabriel, H.; Urhausen, A.; Kindermann, W. (1992): Mobilization of circulating leucocyte and lymphocyte subpopulations during and after short, anaerobic exercise. In: *Europ. J. Appl. Physiol.* 65 (2), S. 164–170. DOI: 10.1007/BF00705075.
- Gerriets, Valerie A.; MacIver, Nancie J. (2014): Role of T cells in malnutrition and obesity. In: *Frontiers in immunology* 5, S. 379. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00379.
- Gesta, Stephane; Tseng, Yu-Hua; Kahn, C. Ronald (2007): Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. In: *Cell* 131 (2), S. 242–256. DOI: 10.1016/j.cell.2007.10.004.

- Goh, Wilford; Huntington, Nicholas D. (2017): Regulation of Murine Natural Killer Cell Development. In: *Frontiers in immunology* 8, S. 130. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00130.
- Gordon, Scott M.; Chaix, Julie; Rupp, Levi J.; Wu, Junmin; Madera, Sharline; Sun, Joseph C. et al. (2012): The Transcription Factors T-bet and Eomes Control Key Checkpoints of Natural Killer Cell Maturation. In: *Immunity* 36 (1), S. 55–67. DOI: 10.1016/j.immuni.2011.11.016.
- Goren, H. Joseph; Kulkarni, Rohit N.; Kahn, C. Ronald (2004): Glucose homeostasis and tissue transcript content of insulin signaling intermediates in four inbred strains of mice: C57BL/6, C57BLKS/6, DBA/2, and 129X1. In: *Endocrinology* 145 (7), S. 3307–3323. DOI: 10.1210/en.2003-1400.
- Hatori, Megumi; Vollmers, Christopher; Zarrinpar, Amir; DiTacchio, Luciano; Bushong, Eric A.; Gill, Shubhroz et al. (2012): Time-restricted feeding without reducing caloric intake prevents metabolic diseases in mice fed a high-fat diet. In: *Cell metabolism* 15 (6), S. 848–860. DOI: 10.1016/j.cmet.2012.04.019.
- Hayakawa, Yoshihiro; Smyth, Mark J. (2006): CD27 dissects mature NK cells into two subsets with distinct responsiveness and migratory capacity. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 176 (3), S. 1517–1524. DOI: 10.4049/jimmunol.176.3.1517.
- He, Yuke; Peng, Hui; Sun, Rui; Wei, Haiming; Ljunggren, Hans-Gustaf; Yokoyama, Wayne M.; Tian, Zhigang (2017): Contribution of inhibitory receptor TIGIT to NK cell education. In: *Journal of Autoimmunity* 81, S. 1–12. DOI: 10.1016/j.jaut.2017.04.001.
- Hibert, Caroline; Delphan, Mahmoud; Scherer, Dominique; Bowers, Laura W.; Hursting, Stephen; Ulrich, Cornelia M. (2017): Signals from the Adipose Microenvironment and the Obesity-Cancer Link-A Systematic Review. In: *Cancer prevention research (Philadelphia, Pa.)* 10 (9), S. 494–506. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-16-0322.
- Ho, E. L.; Heusel, J. W.; Brown, M. G.; Matsumoto, K.; Scalzo, A. A.; Yokoyama, W. M. (1998): Murine Nkg2d and Cd94 are clustered within the natural killer complex and are expressed independently in natural killer cells. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95 (11), S. 6320–6325. DOI: 10.1073/pnas.95.11.6320.
- Hotamisligil, Gökhan S. (2006): Inflammation and metabolic disorders. In: *Nature* 444 (7121), S. 860–867. DOI: 10.1038/nature05485.
- Houchins, J. P.; Yabe, T.; McSherry, C.; Bach, F. H. (1991): DNA sequence analysis of NKG2, a family of related cDNA clones encoding type II integral membrane proteins on human natural killer cells. In: *The Journal of experimental medicine* 173 (4), S. 1017–1020. DOI: 10.1084/jem.173.4.1017.
- Hu, Li-Juan; Zhao, Xiang-Yu; Yu, Xing-Xing; Lv, Meng; Han, Ting-Ting; Han, Wei; Huang, Xiao-Jun (2019): Quantity and Quality Reconstitution of NKG2A+ Natural Killer Cells Are Associated with Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. In: *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 25 (1), S. 1–11. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.08.008.
- Huntington, Nicholas D.; Tabarias, Hy; Fairfax, Kirsten; Brady, Jason; Hayakawa, Yoshihiro; Degli-Esposti, Mariapia A. et al. (2007): NK Cell Maturation and Peripheral Homeostasis Is Associated with KLRG1 Up-Regulation. In: *J Immunol* 178 (8), S. 4764–4770. DOI: 10.4049/jimmunol.178.8.4764.
- Huxley, Rachel R.; Ansary-Moghaddam, Alireza; Clifton, Peter; Czernichow, Sebastien; Parr, Christine L.; Woodward, Mark (2009): The impact of dietary and lifestyle risk factors on risk of colorectal cancer: a quantitative overview of the epidemiological evidence. In: *International journal of cancer* 125 (1), S. 171–180. DOI: 10.1002/ijc.24343.
- Ibrahim, M. Mohsen (2010): Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. In: *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity* 11 (1), S. 11–18. DOI: 10.1111/j.1467-789X.2009.00623.x.
- Inngjerdingen, M.; Kveberg, L.; Naper, C.; Vaage, J. T. (2011): Natural killer cell subsets in man and rodents. In: *Tissue antigens* 78 (2), S. 81–88. DOI: 10.1111/j.1399-0039.2011.01714.x.
- Jaeschke, Lina; Steinbrecher, Astrid; Hansen, Guido; Sommer, Stefan; Adler, Carolin; Janke, Jürgen; Pischon, Tobias (2020): Association of body surface scanner-based abdominal volume with parameters of the Metabolic Syndrome and comparison with manually measured waist circumference. In: *Sci Rep* 10 (1), S. 9324. DOI: 10.1038/s41598-020-66095-6.
- Jahn, Janine; Spielau, Marco; Brandsch, Corinna; Stangl, Gabriele I.; Delank, Karl-Stefan; Bähr, Ina et al. (2015): Decreased NK cell functions in obesity can be reactivated by fat mass reduction. In: *Obesity (Silver Spring, Md.)* 23 (11), S. 2233–2241. DOI: 10.1002/oby.21229.
- Jovicic, Nemanja; Jeftic, Ilija; Jovanovic, Ivan; Radosavljevic, Gordana; Arsenijevic, Nebojsa; Lukic, Miodrag L.; Pejnovic, Nada (2015): Differential Immunometabolic Phenotype in Th1 and Th2 Dominant Mouse Strains in Response to High-Fat Feeding. In: *PLoS one* 10 (7), e0134089. DOI: 10.1371/journal.pone.0134089.

- Juelke, Kerstin; Killig, Monica; Luetke-Eversloh, Merlin; Parente, Eliana; Gruen, Joachim; Morandi, Barbara et al. (2010): CD62L expression identifies a unique subset of polyfunctional CD56dim NK cells. In: *Blood* 116 (8), S. 1299–1307. DOI: 10.1182/blood-2009-11-253286.
- Jung, Yoon Suk; Park, Jung Ho; Park, Dong Il; Sohn, Chong Il; Lee, Jae Myun; Kim, Tae Il (2018): Physical Inactivity and Unhealthy Metabolic Status Are Associated with Decreased Natural Killer Cell Activity. In: *Yonsei Med J* 59 (4), S. 554–562. DOI: 10.3349/ymj.2018.59.4.554.
- Kakanis, M. W.; Peake, J.; Brenu, E. W.; Simmonds, M.; Gray, B.; Hooper, S. L.; Marshall-Gradisnik, S. M. (2010): The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes. In: *Exercise immunology review* 16, S. 119–137. Online verfügbar unter <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20839496/>.
- Kallies, Axel; Carotta, Sebastian; Huntington, Nicholas D.; Bernard, Nicholas J.; Tarlinton, David M.; Smyth, Mark J.; Nutt, Stephen L. (2011): A role for Blimp1 in the transcriptional network controlling natural killer cell maturation. In: *Blood* 117 (6), S. 1869–1879. DOI: 10.1182/blood-2010-08-303123.
- Kappel, M.; Tvede, N.; Galbo, H.; Haahr, P. M.; Kjaer, M.; Linstow, M. et al. (1991): Evidence that the effect of physical exercise on NK cell activity is mediated by epinephrine. In: *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 70 (6), S. 2530–2534. DOI: 10.1152/jappl.1991.70.6.2530.
- Kaur, Kawaljit; Chang, Hui-Hua; Topchyan, Paytsar; Cook, Jessica Morgan; Barkhordarian, Andre; Eibl, Guido; Jewett, Anahid (2018): Deficiencies in Natural Killer Cell Numbers, Expansion, and Function at the Pre-Neoplastic Stage of Pancreatic Cancer by KRAS Mutation in the Pancreas of Obese Mice. In: *Frontiers in immunology* 9, S. 1229. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01229.
- Kobelt, Dennis; Zhang, Chenyu; Clayton-Lucey, Isabelle Ailish; Glaubien, Rainer; Voss, Cynthia; Siegmund, Britta; Stein, Ulrike (2020): Pro-inflammatory TNF- α and IFN- γ Promote Tumor Growth and Metastasis via Induction of MACC1. In: *Frontiers in immunology* 11, S. 980. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00980.
- Koelzer, Viktor H.; Herrmann, Pia; Zlobec, Inti; Karamitopoulou, Eva; Lugli, Alessandro; Stein, Ulrike (2015): Heterogeneity analysis of Metastasis Associated in Colon Cancer 1 (MACC1) for survival prognosis of colorectal cancer patients: a retrospective cohort study. In: *BMC Cancer* 15 (1), S. 160. DOI: 10.1186/s12885-015-1150-z.
- Kondo, Eisuke; Koda, Keiji; Takiguchi, Nobuhiro; Oda, Kenji; Seike, Kazuhiro; Ishizuka, Mitsuru; Miyazaki, Masaru (2003): Preoperative natural killer cell activity as a prognostic factor for distant metastasis following surgery for colon cancer. In: *Dig Surg* 20 (5), S. 445–451. DOI: 10.1159/000072714.
- Kosaraju, Rasagna; Guesdon, William; Crouch, Miranda J.; Teague, Heather L.; Sullivan, E. Madison; Karlsson, Erik A. et al. (2017): B Cell Activity Is Impaired in Human and Mouse Obesity and Is Responsive to an Essential Fatty Acid upon Murine Influenza Infection. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 198 (12), S. 4738–4752. DOI: 10.4049/jimmunol.1601031.
- Kruse, Philip H.; Matta, Jessica; Ugolini, Sophie; Vivier, Eric (2014): Natural cytotoxicity receptors and their ligands. In: *Immunology and cell biology* 92 (3), S. 221–229. DOI: 10.1038/icb.2013.98.
- Kveberg, Lise; Bäck, Camilla J.; Dai, Ke-Zheng; Inngjerdningen, Marit; Rolstad, Bent; Ryan, James C. et al. (2006): The novel inhibitory NKR-P1C receptor and Ly49s3 identify two complementary, functionally distinct NK cell subsets in rats. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 176 (7), S. 4133–4140. DOI: 10.4049/jimmunol.176.7.4133.
- Kveberg, Lise; Jiménez-Royo, Pilar; Naper, Christian; Rolstad, Bent; Butcher, Geoffrey W.; Vaage, John T.; Inngjerdningen, Marit (2010): Two complementary rat NK cell subsets, Ly49s3+ and NKR-P1B+, differ in phenotypic characteristics and responsiveness to cytokines. In: *Journal of leukocyte biology* 88 (1), S. 87–93. DOI: 10.1189/jlb.0110039.
- Lamas, Bruno; Goncalves-Mendes, Nicolas; Nachat-Kappes, Rachida; Rossary, Adrien; Caldefie-Chezet, Florence; Vasson, Marie-Paule; Farges, Marie-Chantal (2013): Leptin modulates dose-dependently the metabolic and cytolytic activities of NK-92 cells. In: *Journal of cellular physiology* 228 (6), S. 1202–1209. DOI: 10.1002/jcp.24273.
- Lamas, Bruno; Nachat-Kappes, Rachida; Goncalves-Mendes, Nicolas; Mishellany, Florence; Rossary, Adrien; Vasson, Marie-Paule; Farges, Marie-Chantal (2015): Dietary fat without body weight gain increases in vivo MCF-7 human breast cancer cell growth and decreases natural killer cell cytotoxicity. In: *Molecular carcinogenesis* 54 (1), S. 58–71. DOI: 10.1002/mc.22074.
- Lamas, Oscar; Martínez, J. Alfredo; Marti, Amelia (2004): Energy restriction restores the impaired immune response in overweight (cafeteria) rats. In: *The Journal of nutritional biochemistry* 15 (7), S. 418–425. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2004.02.003.
- Lanier, L. L. (1998): NK cell receptors. In: *Annual review of immunology* 16, S. 359–393. DOI: 10.1146/annurev.immunol.16.1.359.
- Lanier, L. L.; Corliss, B.; Phillips, J. H. (1997): Arousal and inhibition of human NK cells. In: *Immunological reviews* 155, S. 145–154. DOI: 10.1111/j.1600-065x.1997.tb00947.x.

- Lanier, Lewis L. (2005): NK cell recognition. In: *Annual review of immunology* 23, S. 225–274. DOI: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115526.
- Larsson, Susanna C.; Wolk, Alicja (2007): Obesity and colon and rectal cancer risk: a meta-analysis of prospective studies. In: *The American journal of clinical nutrition* 86 (3), S. 556–565. DOI: 10.1093/ajcn/86.3.556.
- Lauby-Secretan, Béatrice; Scoccianti, Chiara; Loomis, Dana; Grosse, Yann; Bianchini, Franca; Straif, Kurt (2016): Body Fatness and Cancer--Viewpoint of the IARC Working Group. In: *The New England journal of medicine* 375 (8), S. 794–798. DOI: 10.1056/NEJMSr1606602.
- Laue, Tobias; Wrann, Christiane D.; Hoffmann-Castendiek, Birgit; Pietsch, Daniel; Hübner, Lena; Kielstein, Heike (2015): Altered NK cell function in obese healthy humans. In: *BMC obesity* 2, S. 1. DOI: 10.1186/s40608-014-0033-1.
- Lautenbach, Anne; Wrann, Christiane D.; Jacobs, Roland; Müller, Guenter; Brabant, Georg; Nave, Heike (2009): Altered phenotype of NK cells from obese rats can be normalized by transfer into lean animals. In: *Obesity (Silver Spring, Md.)* 17 (10), S. 1848–1855. DOI: 10.1038/oby.2009.140.
- Lee, Byung-Cheol; Kim, Myung-Sunny; Pae, Munkyong; Yamamoto, Yasuhiko; Eberlé, Delphine; Shimada, Takeshi et al. (2016): Adipose Natural Killer Cells Regulate Adipose Tissue Macrophages to Promote Insulin Resistance in Obesity. In: *Cell metabolism* 23 (4), S. 685–698. DOI: 10.1016/j.cmet.2016.03.002.
- Leitlinienprogramm Onkologie (2019): S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom, Langversion 2.1, 2019, AWMF-Registernummer: 021/007OL.
- Leslie, A.; Carey, F. A.; Pratt, N. R.; Steele, R. J. C. (2002): The colorectal adenoma-carcinoma sequence. In: *The British journal of surgery* 89 (7), S. 845–860. DOI: 10.1046/j.1365-2168.2002.02120.x.
- Li, Hai-Feng; Liu, Ye-Qing; Shen, Zhuo-Jian; Gan, Xiang-Feng; Han, Jing-Jing; Liu, Yun-Yun et al. (2015): Downregulation of MACC1 inhibits invasion, migration and proliferation, attenuates cisplatin resistance and induces apoptosis in tongue squamous cell carcinoma. In: *Oncology Reports* 33 (2), S. 651–660. DOI: 10.3892/or.2014.3612.
- Lin, Aifen; Zhang, Rui-Li; Zhang, Xia; He, Xiao-Fang; Zhang, Jian-Gang; Yan, Wei-Hua (2019): Significance of plasma MACC1 levels on the prognostic stratification in patients with colorectal cancer. In: *J Cell Mol Med* 23 (2), S. 1598–1601. DOI: 10.1111/jcmm.13989.
- Liu, Y.; Cheng, Y.; Xu, Y.; Wang, Z.; Du, X.; Li, C. et al. (2017): Increased expression of programmed cell death protein 1 on NK cells inhibits NK-cell-mediated anti-tumor function and indicates poor prognosis in digestive cancers. In: *Oncogene* 36 (44), S. 6143–6153. DOI: 10.1038/onc.2017.209.
- Ljunggren, Hans-Gustaf; Kärre, Klas (1990): In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition. In: *Immunology Today* 11, S. 237–244. DOI: 10.1016/0167-5699(90)90097-S.
- Louie, Janice K.; Acosta, Meileen; Samuel, Michael C.; Schechter, Robert; Vugia, Duc J.; Harriman, Kathleen; Matyas, Bela T. (2011): A novel risk factor for a novel virus: obesity and 2009 pandemic influenza A (H1N1). In: *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 52 (3), S. 301–312. DOI: 10.1093/cid/ciq152.
- Lukassen, H. G. M.; Joosten, I.; van Cranenbroek, B.; van Lierop, M. J. C.; Bulten, J.; Braat, D. D. M.; van der Meer, A. (2004): Hormonal stimulation for IVF treatment positively affects the CD56bright/CD56dim NK cell ratio of the endometrium during the window of implantation. In: *Molecular Human Reproduction* 10 (7), S. 513–520. DOI: 10.1093/molehr/gah067.
- Lynch, Lydia A.; O'Connell, Jean M.; Kwasnik, Anna K.; Cawood, Thomas J.; O'Farrelly, Cliona; O'Shea, Donal B. (2009): Are natural killer cells protecting the metabolically healthy obese patient? In: *Obesity (Silver Spring, Md.)* 17 (3), S. 601–605. DOI: 10.1038/oby.2008.565.
- Malaisé, Muriel; Rovira, Jordi; Renner, Philipp; Eggenhofer, Elke; Sabet-Baktach, Manije; Lantow, Margareta et al. (2014): KLRG1+ NK cells protect T-bet-deficient mice from pulmonary metastatic colorectal carcinoma. In: *J Immunol* 192 (4), S. 1954–1961. DOI: 10.4049/jimmunol.1300876.
- Mariani, Francesco; Sena, Paola; Magnani, Giulia; Mancini, Stefano; Palumbo, Carla; Ponz de Leon, Maurizio; Roncucci, Luca (2013): PLZF expression during colorectal cancer development and in normal colorectal mucosa according to body size, as marker of colorectal cancer risk. In: *TheScientificWorldJournal* 2013, S. 630869. DOI: 10.1155/2013/630869.
- Mattiola, Irene; Pesant, Matthieu; Tentorio, Paolo F.; Molgora, Martina; Marcenaro, Emanuela; Lugli, Enrico et al. (2015): Priming of Human Resting NK Cells by Autologous M1 Macrophages via the Engagement of IL-1 β , IFN- β , and IL-15 Pathways. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 195 (6), S. 2818–2828. DOI: 10.4049/jimmunol.1500325.

- Michel, Tatiana; Poli, Aurélie; Cuapio, Angelica; Briquemont, Benjamin; Iserentant, Gilles; Ollert, Markus; Zimmer, Jacques (2016): Human CD56bright NK Cells: An Update. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 196 (7), S. 2923–2931. DOI: 10.4049/jimmunol.1502570.
- Michelet, Xavier; Dyck, Lydia; Hogan, Andrew; Loftus, Roisin M.; Duquette, Danielle; Wei, Kevin et al. (2018): Metabolic reprogramming of natural killer cells in obesity limits antitumor responses. In: *Nature immunology* 19 (12), S. 1330–1340. DOI: 10.1038/s41590-018-0251-7.
- Millard, Anne-Laure; Valli, Piero V.; Stussi, Georg; Mueller, Nicolas J.; Yung, Gisella Puga; Seebach, Jörg D. (2013): Brief Exercise Increases Peripheral Blood NK Cell Counts without Immediate Functional Changes, but Impairs their Responses to ex vivo Stimulation. In: *Frontiers in immunology* 4, S. 125. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00125.
- Miller, Colette N.; Brown, Lynda M.; Rayalam, Srujana; Della-Fera, Mary Anne; Baile, Clifton A. (2012): Estrogens, inflammation and obesity: an overview. In: *Front. Biol.* 7 (1), S. 40–47. DOI: 10.1007/s11515-011-1174-y.
- Mitsuhashi, Kazuteru; Hashimoto, Yoshitaka; Tanaka, Muhei; Toda, Hitoshi; Matsumoto, Shinobu; Ushigome, Emi et al. (2017): Combined effect of body mass index and waist-height ratio on incident diabetes; a population based cohort study. In: *Journal of clinical biochemistry and nutrition* 61 (2), S. 118–122. DOI: 10.3164/jcbs.16-116.
- Mori, Akinori; Sakurai, Hiroaki; Choo, Min-Kyung; Obi, Ryosuke; Koizumi, Keiichi; Yoshida, Chiho et al. (2006): Severe pulmonary metastasis in obese and diabetic mice. In: *International journal of cancer* 119 (12), S. 2760–2767. DOI: 10.1002/ijc.22248.
- Moro-García, Marco Antonio; Fernández-García, Benjamín; Echeverría, Ainara; Rodríguez-Alonso, Manuel; Suárez-García, Francisco Manuel; Solano-Jaurrieta, Juan José et al. (2014): Frequent participation in high volume exercise throughout life is associated with a more differentiated adaptive immune response. In: *Brain, Behavior, and Immunity* 39, S. 61–74. DOI: 10.1016/j.bbi.2013.12.014.
- Moulin, Cristiane Martins; Marguti, Ivo; Peron, Jean Pierre Schatzmann; Halpern, Alfredo; Rizzo, Luiz Vicente (2011): Bariatric surgery reverses natural killer (NK) cell activity and NK-related cytokine synthesis impairment induced by morbid obesity. In: *Obesity surgery* 21 (1), S. 112–118. DOI: 10.1007/s11695-010-0250-8.
- Müller-Durovic, Bojana; Lanna, Alessio; Covre, Luciana Polaco; Mills, Rachel S.; Henson, Sian M.; Akbar, Arne N. (2016): Killer Cell Lectin-like Receptor G1 Inhibits NK Cell Function through Activation of Adenosine 5'-Monophosphate-Activated Protein Kinase. In: *J Immunol* 197 (7), S. 2891–2899. DOI: 10.4049/jimmunol.1600590.
- Mylod, Eimear; Melo, Ashanty M.; Donlon, Noel E.; Davern, Maria; Bhardwaj, Anshul; Reynolds, John V. et al. (2021): Fractalkine Elicits Chemotactic, Phenotypic, and Functional Effects on CX3CR1+CD27- NK Cells in Obesity-Associated Cancer. In: *J Immunol* 207 (4), S. 1200–1210. DOI: 10.4049/jimmunol.2000987.
- Nagtegaal, Iris D.; Odze, Robert D.; Klimstra, David; Paradis, Valerie; Rugge, Massimo; Schirmacher, Peter et al. (2020): The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. In: *Histopathology* 76 (2), S. 182–188. DOI: 10.1111/his.13975.
- Naujoks, Wiebke; Quandt, Dagmar; Hauffe, Anja; Kielstein, Heike; Bähr, Ina; Spielmann, Julia (2020): Characterization of Surface Receptor Expression and Cytotoxicity of Human NK Cells and NK Cell Subsets in Overweight and Obese Humans. In: *Frontiers in immunology* 11, S. 573200. DOI: 10.3389/fimmu.2020.573200.
- Nave, Heike; Mueller, Guenter; Siegmund, Britta; Jacobs, Roland; Stroh, Thorsten; Schueler, Ulrike et al. (2008): Resistance of Janus kinase-2 dependent leptin signaling in natural killer (NK) cells: a novel mechanism of NK cell dysfunction in diet-induced obesity. In: *Endocrinology* 149 (7), S. 3370–3378. DOI: 10.1210/en.2007-1516.
- Nedergaard, Jan; Bengtsson, Tore; Cannon, Barbara (2007): Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. In: *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 293 (2), E444-52. DOI: 10.1152/ajpendo.00691.2006.
- Nielsen, Carolyn M.; White, Matthew J.; Goodier, Martin R.; Riley, Eleanor M. (2013): Functional Significance of CD57 Expression on Human NK Cells and Relevance to Disease. In: *Front. Immunol.* 4. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00422.
- Nielsen, H. B.; Secher, N. H.; Christensen, N. J.; Pedersen, B. K. (1996): Lymphocytes and NK cell activity during repeated bouts of maximal exercise. In: *The American journal of physiology* 271 (1 Pt 2), R222-7. DOI: 10.1152/ajpregu.1996.271.1.R222.
- Nieman, D. C.; Miller, A. R.; Henson, D. A.; Warren, B. J.; Gusewitch, G.; Johnson, R. L. et al. (1993): Effects of high- vs moderate-intensity exercise on natural killer cell activity. In: *Medicine and science in sports and exercise* 25 (10), S. 1126–1134.
- Ning, Y.; Wang, L.; Giovannucci, E. L. (2010): A quantitative analysis of body mass index and colorectal cancer: findings from 56 observational studies. In: *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity* 11 (1), S. 19–30. DOI: 10.1111/j.1467-789X.2009.00613.x.

- Nishikawa, Satomi; Yasoshima, Akira; Doi, Kunio; Nakayama, Hiroyuki; Uetsuka, Koji (2007): Involvement of sex, strain and age factors in high fat diet-induced obesity in C57BL/6J and BALB/cA mice. In: *Exp. Anim.* 56 (4), S. 263–272. DOI: 10.1538/expanim.56.263.
- O'Rourke, Robert W.; Gaston, Garen D.; Meyer, Kevin A.; White, Ashley E.; Marks, Daniel L. (2013): Adipose tissue NK cells manifest an activated phenotype in human obesity. In: *Metabolism: clinical and experimental* 62 (11), S. 1557–1561. DOI: 10.1016/j.metabol.2013.07.011.
- O'Shea, Donal; Cawood, Tom J.; O'Farrelly, Cliona; Lynch, Lydia (2010): Natural killer cells in obesity: impaired function and increased susceptibility to the effects of cigarette smoke. In: *PLoS one* 5 (1), e8660. DOI: 10.1371/journal.pone.0008660.
- O'Sullivan, Timothy E.; Rapp, Moritz; Fan, Xiyang; Weizman, Orr-El; Bhardwaj, Priya; Adams, Nicholas M. et al. (2016): Adipose-Resident Group 1 Innate Lymphoid Cells Promote Obesity-Associated Insulin Resistance. In: *Immunity* 45 (2), S. 428–441. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.06.016.
- Pazina, Tatiana; Shemesh, Avishai; Brusilovsky, Michael; Porgador, Angel; Campbell, Kerry S. (2017): Regulation of the Functions of Natural Cytotoxicity Receptors by Interactions with Diverse Ligands and Alterations in Splice Variant Expression. In: *Frontiers in immunology* 8, S. 369. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00369.
- Pedersen, Line; Idorn, Manja; Olofsson, Gitte H.; Lauenborg, Britt; Nookaew, Intawat; Hansen, Rasmus Hvass et al. (2016): Voluntary Running Suppresses Tumor Growth through Epinephrine- and IL-6-Dependent NK Cell Mobilization and Redistribution. In: *Cell metabolism* 23 (3), S. 554–562. DOI: 10.1016/j.cmet.2016.01.011.
- Peng, Hui; Tian, Zhigang (2017): Natural Killer Cell Memory: Progress and Implications. In: *Frontiers in immunology* 8, S. 1143. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01143.
- Petrakis, Demetrios; Margină, Denisa; Tsarouhas, Konstantinos; Tekos, Fotios; Stan, Miriana; Nikitovic, Dragana et al. (2020): Obesity - a risk factor for increased COVID-19 prevalence, severity and lethality (Review). In: *Mol Med Rep* 22 (1), S. 9–19. DOI: 10.3892/mmr.2020.11127.
- Prager, Isabel; Liesche, Clarissa; van Ooijen, Hanna; Urlaub, Doris; Verron, Quentin; Sandström, Niklas et al. (2019): NK cells switch from granzyme B to death receptor-mediated cytotoxicity during serial killing. In: *The Journal of experimental medicine* 216 (9), S. 2113–2127. DOI: 10.1084/jem.20181454.
- Radhakrishnan, Harikrishnan; Walther, Wolfgang; Zincke, Fabian; Kobelt, Dennis; Imbastari, Francesca; Erdem, Müge et al. (2018): MACC1-the first decade of a key metastasis molecule from gene discovery to clinical translation. In: *Cancer Metastasis Rev* 37 (4), S. 805–820. DOI: 10.1007/s10555-018-9771-8.
- Rahim, Mir Munir A.; Tu, Megan M.; Mahmoud, Ahmad Bakur; Wight, Andrew; Abou-Samra, Elias; Lima, Patricia D. A.; Makrigiannis, Andrew P. (2014): Ly49 receptors: innate and adaptive immune paradigms. In: *Frontiers in immunology* 5, S. 145. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00145.
- Reddy, Priya; Lent-Schochet, Daniella; Ramakrishnan, Neeraj; McLaughlin, Matthew; Jialal, Ishwarlal (2019): Metabolic syndrome is an inflammatory disorder: A conspiracy between adipose tissue and phagocytes. In: *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 496, S. 35–44. DOI: 10.1016/j.cca.2019.06.019.
- Renehan, Andrew G.; Tyson, Margaret; Egger, Matthias; Heller, Richard F.; Zwahlen, Marcel (2008): Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. In: *The Lancet* 371 (9612), S. 569–578. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60269-X.
- Robbins, Scott H.; Nguyen, Khuong B.; Takahashi, Nobuaki; Mikayama, Toshifumi; Biron, Christine A.; Brossay, Laurent (2002): Cutting edge: inhibitory functions of the killer cell lectin-like receptor G1 molecule during the activation of mouse NK cells. In: *J Immunol* 168 (6), S. 2585–2589. DOI: 10.4049/jimmunol.168.6.2585.
- Robert Koch Institut (2015): Gesundheit in Deutschland, Robert Koch-Institut.
- Robert-Koch-Institut (2019): Krebs in Deutschland für 2015/2016, 2019, S. 38–41.
- Rosen, David B.; Bettadapura, Jayaram; Alsharifi, Mohammed; Mathew, Porunelloor A.; Warren, Hilary S.; Lanier, Lewis L. (2005): Cutting Edge: Lectin-Like Transcript-1 Is a Ligand for the Inhibitory Human NKR-P1A Receptor. In: *J Immunol* 175 (12), S. 7796–7799. DOI: 10.4049/jimmunol.175.12.7796.
- Rosenstock, Philip; Horstkorte, Rüdiger; Gnanapragassam, Vinayaga Srinivasan; Harth, Jörg; Kielstein, Heike (2017): Siglec-7 expression is reduced on a natural killer (NK) cell subset of obese humans. In: *Immunologic research* 65 (5), S. 1017–1024. DOI: 10.1007/s12026-017-8942-y.
- Schwindt, C. D.; Zaldivar, F.; Wilson, L.; Leu, S-Y; Wang-Rodriguez, J.; Mills, P. J.; Cooper, D. M. (2007): Do circulating leucocytes and lymphocyte subtypes increase in response to brief exercise in children with and without asthma? In: *British Journal of Sports Medicine* 41 (1), S. 34–40. DOI: 10.1136/bjism.2006.030205.

- Seth, Sebastian; Georgoudaki, Anna-Maria; Chambers, Benedict J.; Qiu, Quan; Kremmer, Elisabeth; Maier, Michael K. et al. (2009): Heterogeneous expression of the adhesion receptor CD226 on murine NK and T cells and its function in NK-mediated killing of immature dendritic cells. In: *Journal of leukocyte biology* 86 (1), S. 91–101. DOI: 10.1189/jlb.1208745.
- Shade, Erin D.; Ulrich, Cornelia M.; Wener, Mark H.; Wood, Brent; Yasui, Yutaka; Lacroix, Kristin et al. (2004): Frequent intentional weight loss is associated with lower natural killer cell cytotoxicity in postmenopausal women: possible long-term immune effects. In: *Journal of the American Dietetic Association* 104 (6), S. 903–912. DOI: 10.1016/j.jada.2004.03.018.
- Simonetta, Federico; Alvarez, Maite; Negrin, Robert S. (2017): Natural Killer Cells in Graft-versus-Host-Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. In: *Frontiers in immunology* 8, S. 465. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00465.
- Smyth, M. J.; Cretney, E.; Takeda, K.; Wiltrot, R. H.; Sedger, L. M.; Kayagaki, N. et al. (2001): Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) contributes to interferon gamma-dependent natural killer cell protection from tumor metastasis. In: *Journal of Experimental Medicine* 193 (6), S. 661–670. DOI: 10.1084/jem.193.6.661.
- Smyth, Mark J.; Cretney, Erika; Kelly, Janice M.; Westwood, Jennifer A.; Street, Shayna E. A.; Yagita, Hideo et al. (2005): Activation of NK cell cytotoxicity. In: *Molecular immunology* 42 (4), S. 501–510. DOI: 10.1016/j.molimm.2004.07.034.
- Spielmann, J.; Hanke, J.; Knauf, D.; Ben-Eliyahu, S.; Jacobs, R.; Stangl, G. I. et al. (2017): Significantly enhanced lung metastasis and reduced organ NK cell functions in diet-induced obese rats. In: *BMC obesity* 4, S. 24. DOI: 10.1186/s40608-017-0161-5.
- Spielmann, Julia; Mattheis, Laura; Jung, Juliane-Susanne; Rauße, Henrik; Glaß, Markus; Bähr, Ina et al. (2020a): Effects of obesity on NK cells in a mouse model of postmenopausal breast cancer. In: *Sci Rep* 10 (1), S. 20606. DOI: 10.1038/s41598-020-76906-5.
- Spielmann, Julia; Naujoks, Wiebke; Emde, Matthias; Allweyer, Martin; Fänder, Johannes; Kielstein, Heike et al. (2021): The Impact of High-Fat Diet and Restrictive Feeding on Natural Killer Cells in Obese-Resistant BALB/c Mice. In: *Frontiers in nutrition* 8, S. 711824. DOI: 10.3389/fnut.2021.711824.
- Spielmann, Julia; Naujoks, Wiebke; Emde, Matthias; Allweyer, Martin; Kielstein, Heike; Quandt, Dagmar; Bähr, Ina (2020b): High-Fat Diet and Feeding Regime Impairs Number, Phenotype, and Cytotoxicity of Natural Killer Cells in C57BL/6 Mice. In: *Frontiers in nutrition* 7, S. 585693. DOI: 10.3389/fnut.2020.585693.
- Srivastava, Raghvendra M.; Savithri, B.; Khar, Ashok (2003): Activating and inhibitory receptors and their role in natural killer cell function. In: *Indian journal of biochemistry & biophysics* 40 (5), S. 291–299.
- Stein, Ulrike; Burock, Susen; Herrmann, Pia; Wendler, Ina; Niederstrasser, Markus; Wernecke, Klaus-Dieter; Schlag, Peter M. (2012): Circulating MACC1 transcripts in colorectal cancer patient plasma predict metastasis and prognosis. In: *PloS one* 7 (11), e49249. DOI: 10.1371/journal.pone.0049249.
- Stein, Ulrike; Schlag, Peter M. (2007): Clinical, Biological, and Molecular Aspects of Metastasis in Colorectal Cancer. In: Manfred Dietel (Hg.): Targeted therapies in cancer. With 25 tables, Bd. 176. Berlin: Springer (Recent Results in Cancer Research, 176), S. 61–80.
- Stein, Ulrike; Walther, Wolfgang; Arlt, Franziska; Schwabe, Holger; Smith, Janice; Fichtner, Iduna et al. (2009): MACC1, a newly identified key regulator of HGF-MET signaling, predicts colon cancer metastasis. In: *Nat Med* 15 (1), S. 59–67. DOI: 10.1038/nm.1889.
- Stewart, C. A.; Vivier, E.; Colonna, M. (2006): Strategies of natural killer cell recognition and signaling. In: *Current topics in microbiology and immunology* 298, S. 1–21. DOI: 10.1007/3-540-27743-9_1.
- Sun, Haoyu; Sun, Cheng; Xiao, Weihua; Sun, Rui (2019): Tissue-resident lymphocytes: from adaptive to innate immunity. In: *Cellular & molecular immunology* 16 (3), S. 205–215. DOI: 10.1038/s41423-018-0192-y.
- Sutlu, T.; Alici, E. (2009): Natural killer cell-based immunotherapy in cancer: current insights and future prospects. In: *Journal of internal medicine* 266 (2), S. 154–181. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2009.02121.x.
- Suzui, Masatoshi; Kawai, Takeshi; Kimura, Hiroko; Takeda, Kazuyoshi; Yagita, Hideo; Okumura, Ko et al. (2004): Natural killer cell lytic activity and CD56(dim) and CD56(bright) cell distributions during and after intensive training. In: *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 96 (6), S. 2167–2173. DOI: 10.1152/jappphysiol.00513.2003.
- Takahashi, E.; Kuranaga, N.; Satoh, K.; Habu, Y.; Shinomiya, N.; Asano, T. et al. (2007): Induction of CD16+ CD56bright NK cells with antitumour cytotoxicity not only from CD16- CD56bright NK Cells but also from CD16- CD56dim NK cells. In: *Scandinavian journal of immunology* 65 (2), S. 126–138. DOI: 10.1111/j.1365-3083.2006.01883.x.
- Theurich, Sebastian; Tsaousidou, Eva; Hanssen, Ruth; Lempradl, Adelheid M.; Mauer, Jan; Timper, Katharina et al. (2017): IL-6/Stat3-Dependent Induction of a Distinct, Obesity-Associated NK Cell Subpopulation Deteriorates Energy and Glucose Homeostasis. In: *Cell metabolism* 26 (1), 171-184.e6. DOI: 10.1016/j.cmet.2017.05.018.

- Tian, Zhigang; Sun, Rui; Wei, Haiming; Gao, Bin (2002): Impaired natural killer (NK) cell activity in leptin receptor deficient mice: leptin as a critical regulator in NK cell development and activation. In: *Biochemical and biophysical research communications* 298 (3), S. 297–302. DOI: 10.1016/S0006-291X(02)02462-2.
- Tobin, Laura M.; Mavinkurve, Meenal; Carolan, Eirin; Kinlen, David; O'Brien, Eoin C.; Little, Mark A. et al. (2017): NK cells in childhood obesity are activated, metabolically stressed, and functionally deficient. In: *JCI insight* 2 (24). DOI: 10.1172/jci.insight.94939.
- Trayhurn, Paul (2005): Adipose tissue in obesity--an inflammatory issue. In: *Endocrinology* 146 (3), S. 1003–1005. DOI: 10.1210/en.2004-1597.
- Tremblay-McLean, Alexandra; Coenraads, Sita; Kiani, Zahra; Dupuy, Franck P.; Bernard, Nicole F. (2019): Expression of ligands for activating natural killer cell receptors on cell lines commonly used to assess natural killer cell function. In: *BMC immunology* 20 (1), S. 8. DOI: 10.1186/s12865-018-0272-x.
- Vance, R. E.; Kraft, J. R.; Altman, J. D.; Jensen, P. E.; Raullet, D. H. (1998): Mouse CD94/NKG2A is a natural killer cell receptor for the nonclassical major histocompatibility complex (MHC) class I molecule Qa-1(b). In: *The Journal of experimental medicine* 188 (10), S. 1841–1848. DOI: 10.1084/jem.188.10.1841.
- Vázquez-Vela, Maria Eugenia Frigolet; Torres, Nimbe; Tovar, Armando R. (2008): White adipose tissue as endocrine organ and its role in obesity. In: *Archives of medical research* 39 (8), S. 715–728. DOI: 10.1016/j.arcmed.2008.09.005.
- Viel, Sébastien; Besson, Laurie; Charrier, Emily; Marçais, Antoine; Disse, Emmanuel; Bienvenu, Jacques et al. (2017): Alteration of Natural Killer cell phenotype and function in obese individuals. In: *Clinical immunology (Orlando, Fla.)* 177, S. 12–17. DOI: 10.1016/j.clim.2016.01.007.
- Vitale, M.; Bottino, C.; Sivori, S.; Sanseverino, L.; Castriconi, R.; Marcenaro, E. et al. (1998): NKp44, a novel triggering surface molecule specifically expressed by activated natural killer cells, is involved in non-major histocompatibility complex-restricted tumor cell lysis. In: *The Journal of experimental medicine* 187 (12), S. 2065–2072. DOI: 10.1084/jem.187.12.2065.
- Vitale, Massimo; Falco, Michela; Castriconi, Roberta; Parolini, Silvia; Zambello, Renato; Semenzato, Gianpietro et al. (2001): Identification of NKp80, a novel triggering molecule expressed by human NK cells. In: *Eur. J. Immunol.* 31 (1), S. 233–242. DOI: 10.1002/1521-4141(200101)31:1<233::AID-IMMU233>3.0.CO;2-4.
- Vivier, Eric; Raullet, David H.; Moretta, Alessandro; Caligiuri, Michael A.; Zitvogel, Laurence; Lanier, Lewis L. et al. (2011): Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. In: *Science (New York, N.Y.)* 331 (6013), S. 44–49. DOI: 10.1126/science.1198687.
- Vivier, Eric; Ugolini, Sophie; Blaise, Didier; Chabannon, Christian; Brossay, Laurent (2012): Targeting natural killer cells and natural killer T cells in cancer. In: *Nature reviews. Immunology* 12 (4), S. 239–252. DOI: 10.1038/nri3174.
- Wagner, Julia A.; Rosario, Maximilian; Romee, Rizwan; Berrien-Elliott, Melissa M.; Schneider, Stephanie E.; Leong, Jeffrey W. et al. (2017): CD56bright NK cells exhibit potent antitumor responses following IL-15 priming. In: *The Journal of clinical investigation* 127 (11), S. 4042–4058. DOI: 10.1172/JCI90387.
- Walzer, Thierry; Bléry, Mathieu; Chaix, Julie; Fuseri, Nicolas; Chasson, Lionel; Robbins, Scott H. et al. (2007): Identification, activation, and selective in vivo ablation of mouse NK cells via NKp46. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (9), S. 3384–3389. DOI: 10.1073/pnas.0609692104.
- Wang, Jong-Shyan; Weng, Tzu-Pin (2011): Hypoxic exercise training promotes antitumour cytotoxicity of natural killer cells in young men. In: *Clinical science (London, England : 1979)* 121 (8), S. 343–353. DOI: 10.1042/CS20110032.
- Wasinski, Frederick; Bacurau, Reury F. P.; Moraes, Milton R.; Haro, Anderson S.; Moraes-Vieira, Pedro M. M.; Estrela, Gabriel R. et al. (2013): Exercise and caloric restriction alter the immune system of mice submitted to a high-fat diet. In: *Mediators of inflammation* 2013, S. 395672. DOI: 10.1155/2013/395672.
- Watzl, Carsten (2003): The NKG2D receptor and its ligands--recognition beyond the "missing self"? In: *Microbes and Infection* 5 (1), S. 31–37. DOI: 10.1016/S1286-4579(02)00057-6.
- Wensveen, Felix M.; Jelenčić, Vedrana; Valentić, Sonja; Šestan, Marko; Wensveen, Tamara Turk; Theurich, Sebastian et al. (2015): NK cells link obesity-induced adipose stress to inflammation and insulin resistance. In: *Nature immunology* 16 (4), S. 376–385. DOI: 10.1038/ni.3120.
- West, D. B.; Boozer, C. N.; Moody, D. L.; Atkinson, R. L. (1992): Dietary obesity in nine inbred mouse strains. In: *The American journal of physiology* 262 (6 Pt 2), R1025-32. DOI: 10.1152/ajpregu.1992.262.6.R1025.
- WHO (2020): Obesity and overweight, WHO fact sheet N. 311.
- Winawer, Sidney; Fletcher, Robert; Rex, Douglas; Bond, John; Burt, Randall; Ferrucci, Joseph et al. (2003): Colorectal cancer screening and surveillance: clinical guidelines and rationale-Update based on new evidence. In: *Gastroenterology* 124 (2), S. 544–560. DOI: 10.1053/gast.2003.50044.

Wing, Edward J.; Stanko, Ronald T.; Winkelstein, Alan; Adibi, Siamak A. (1983): Fasting-enhanced immune effector mechanisms in obese subjects. In: *The American Journal of Medicine* 75 (1), S. 91–96. DOI: 10.1016/0002-9343(83)91172-5.

Wolin, Kathleen Y.; Carson, Kenneth; Colditz, Graham A. (2010): Obesity and cancer. In: *The oncologist* 15 (6), S. 556–565. DOI: 10.1634/theoncologist.2009-0285.

Wrann, Christiane D.; Laue, Tobias; Hübner, Lena; Kuhlmann, Susanne; Jacobs, Roland; Goudeva, Lilia; Nave, Heike (2012): Short-term and long-term leptin exposure differentially affect human natural killer cell immune functions. In: *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 302 (1), E108-16. DOI: 10.1152/ajpendo.00057.2011.

Zhao, Yueran; Sun, Rui; You, Li; Gao, Chunyi; Tian, Zhigang (2003): Expression of leptin receptors and response to leptin stimulation of human natural killer cell lines. In: *Biochemical and biophysical research communications* 300 (2), S. 247–252. DOI: 10.1016/s0006-291x(02)02838-3.

Zimmer, P.; Bloch, W.; Schenk, A.; Zopf, E. M.; Hildebrandt, U.; Streckmann, F. et al. (2015): Exercise-induced Natural Killer Cell Activation is Driven by Epigenetic Modifications. In: *International journal of sports medicine* 36 (6), S. 510–515. DOI: 10.1055/s-0034-1398531.

Zingoni, Alessandra; Molfetta, Rosa; Fionda, Cinzia; Soriani, Alessandra; Paolini, Rossella; Cipitelli, Marco et al. (2018): NKG2D and Its Ligands: "One for All, All for One". In: *Frontiers in immunology* 9, S. 476. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00476.

5 Thesen

1. Die Prävalenz für Adipositas steigt nach wie vor stetig an und hat pandemische Ausmaße erreicht. Neben Folgeerkrankungen wie Diabetes mellitus Typ2 und kardio-vaskulären Störungen ist die Prävalenz für die Entstehung verschiedener Tumorerkrankungen bei Fettleibigkeit deutlich erhöht.
2. Das kolorektale Karzinom ist weltweit die dritthäufigste Tumorerkrankung bei Männern sowie die zweithäufigste Tumorerkrankung bei Frauen. Adipositas ist ein wesentlicher Risikofaktor für das gehäufte Auftreten kolorektaler Karzinome und die erhöhte Tumor-assoziierte Mortalität. Obwohl zahlreiche Pathomechanismen untersucht und diskutiert wurden, sind die Ursachen für das erhöhte Kolonkarzinomrisiko bei Adipositas derzeit noch weitgehend ungeklärt.
3. Natürliche Killer (NK)-Zellen sind die drittgrößte Klasse der im Blut zirkulierenden Lymphozyten und dienen der raschen Eliminierung virusinfizierter oder maligne transformierter Zellen. Zahlreiche Studien konnten zeigen, dass die Funktionalität von Natürlichen Killer (NK)-Zellen bei adipösen Individuen beeinträchtigt ist.
4. Eine spezifische Charakterisierung von NK-Zellen bei Diät-induziert adipösen Ratten und Mäusen belegt Veränderungen in Frequenz, Verteilung von Subpopulationen und Phänotyp von NK-Zellen in Blut, Milz, Leber und Fettgewebe.
5. Umfangreiche Analysen an humanen Proben zeigten weiterhin spezifische Störungen in Frequenz, Verteilung von Subpopulationen und Phänotyp von NK-Zellen im Blut adipöser Blutspender. Zudem wurden bereits bei prä-adipösen Blutspendern Veränderungen an NK-Zellen festgestellt.
6. Durch Zytotoxizitätsmessungen an murinen und humanen NK-Zellen wurde bei Adipositas eine deutlich reduzierte lytische Aktivität gegenüber Kolonkarzinomzellen nachgewiesen. *In vitro*-Untersuchungen zeigen, dass das bei Adipositas verstärkt freigesetzte Adipozytokin Leptin Einfluss auf die NK-Zell-Dysfunktion bei Fettleibigkeit hat. Untersuchungen zu verschiedenen Tötungsmechanismen von NK-Zellen deuten darauf hin, dass die verminderte NK-Zell-Zytotoxizität bei Adipositas durch Störungen

der Todesliganden-induzierten Zelllyse, nicht jedoch der Granula-abhängigen Zytotoxizität, bedingt ist.

7. Ergebnisse von Tierversuchen an Wistar-Ratten mit Induktion von kolorektalen Tumoren durch das Karzinogen Azoxymethan belegen, dass bei Diät-induziert adipösen Versuchstieren Störungen von NK-Zellen mit einem erhöhten Kolontumorrisiko assoziiert waren.
8. Tierversuche an Adipositas-anfälligen C57BL/6-Mäusen zeigten, dass eine moderate Restriktion der Futtermenge bei Fütterung einer Hochfettdiät die Adipositas-assozierten Störungen der NK-Zellen teilweise verhindern kann. Bei Studien an Adipositas-resistenten BALB/c-Mäusen wurden trotz gleicher Diätzusammensetzung und Fütterungsdauer kein Einfluss auf Körpergewicht, Fettmasse und NK-Zell-Parameter festgestellt. Daraus kann geschlossen werden, dass weniger spezielle Faktoren der Hochfettdiät als vielmehr Adipositas-assozierte metabolische Veränderungen zur NK-Zell-Dysfunktion führen.
9. Eine Interventionsstudie an adipösen Probanden mit Erhöhung der körperlichen Aktivität und Ernährungsberatung zeigten, dass durch ein moderates Bewegungsprogramm kombiniert mit Ernährungsumstellung die Adipositas-assozierten Störungen von NK-Zellen auch beim Menschen teilweise aufgehoben werden können.
10. Die Daten der vorliegenden Arbeit ergänzen bisherige Befunde zum Einfluss von Adipositas auf NK-Zellen und zeigen erstmals einen Zusammenhang zwischen NK-Zell-Dysfunktionen und erhöhtem Kolonkarzinomrisiko bei Fettleibigkeit auf. Zudem wurden positive Effekte von moderater Restriktion der Nahrungsaufnahme, Gewichtsverlust und sportlicher Aktivität auf die NK-Zell-Funktionalität nachgewiesen.

6 Anhang

Eigene Originalarbeiten

Nachfolgend werden die Abstracts der Originalarbeiten aufgeführt, die dieser Arbeit zugrunde liegen.

Decreased NK cell functions in obesity can be re-activated by fat mass reduction

Jahn, J., Spielau, M.; Brandsch, C., Stangl, G. I., Delank, K.-S., Bähr, I.; Berreis, T., Wrann, C. D., Kielstein, H. (2015)

Obesity 23, 2233-41

DOI: 10.1002/oby.21229

Abstract:

Objective: Natural killer (NK) cells are the first defense against malignant cells, and their functions are severely impaired in individuals with obesity. However, it is not known whether functions can be reactivated after weight loss. The alterations of NK cell functions after fat mass reduction were investigated. Methods: Thirty-two healthy adults with obesity were divided into control and experimental groups. Participants of the experimental group performed a 3-month program of exercise training and nutrition. Anthropometric, physiological, and metabolic parameters and plasma adipocytokines were determined. Peripheral blood mononuclear cells were analyzed by means of flow cytometry and Western blot assay for various NK cell-specific functional parameters and leptin signaling components. NK cell-mediated cytotoxicity assay with leptin stimulation was performed. Results: Male participants significantly decreased their body fat mass ($P < 0.05$) and increased physical fitness ($P < 0.05$). Plasma leptin levels were significantly reduced ($P < 0.05$) and intracellular interferon gamma (IFN- γ) expression in CD56^{dim} NK cells was significantly increased ($P < 0.001$) 3 months after study end. Stimulation of NK-92 cells with different leptin dosages revealed a significant dose-dependent decrease of specific tumor cell lysis. Conclusions: The present study demonstrates a reactivation of NK cell functionality after body fat mass reduction in persons with obesity.

Diet-induced obesity is associated with an impaired NK cell function and an increased colon cancer incidence

Bähr, I., Goritz, V., Doberstein, H., Hiller, G. G. R., Rosenstock, P., Jahn, J., Pörtner, O. J., Berreis, T., Müller, T., Spielmann, J., Kielstein, H. (2017)

J Nutr Metab 2017, 4297025

DOI: 10.1155/2017/4297025

Abstract:

Obesity is associated with an increased colon cancer incidence, but underlying mechanisms remained unclear. Previous studies showed altered Natural killer (NK) cell functions in obese individuals. Therefore, we studied the impact of an impaired NK cell functionality on the increased colon cancer risk in obesity. In vitro investigations demonstrated a decreased IFN- γ secretion and cytotoxicity of human NK cells against colon tumor cells after NK cell preincubation with the adipokine leptin. In addition, leptin incubation decreased the expression of activating NK cell receptors. In animal studies, colon cancer growth was induced by injection of azoxymethane (AOM) in normal weight and diet-induced obese rats. Body weight and visceral fat mass were increased in obese animals compared to normal weight rats. AOM-treated obese rats showed an increased quantity, size, and weight of colon tumors compared to the normal weight tumor group. Immunohistochemical analyses demonstrated a decreased number of NK cells in spleen and liver in obesity. Additionally, the expression levels of activating NK cell receptors were lower in spleen and liver of obese rats. The results show for the first time that the decreased number and impaired NK cell function may be one cause for the higher colon cancer risk in obesity.

Impaired natural killer cell subset phenotypes in human obesity

Bähr, I., Jahn, J., Zipprich, A., Pahlow, I., Spielmann, J., Kielstein, H. (2018)

Immunol Res 66:234-44

DOI: 10.1007/s12026-018-8989-4

Abstract:

Obesity is associated with alterations in functionality of immune cells, like macrophages and natural killer (NK) cells, leading to an increased risk for severe infections and several cancer types. This study aimed to examine immune cell populations and functional NK cell parameters focusing on NK cell subset phenotypes in normal-weight and obese humans. Therefore, peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated from normal-weight and obese individuals and analyzed by flow cytometry. Results show no significant changes in the frequency of monocytes, B lymphocytes, or NKT cells but a significantly increased frequency of T lymphocytes in obesity. The frequency of total NK cells was unaltered, whereas the number of low cytotoxic CD56^{bright} NK cell subset was increased, and the number of high cytotoxic CD56^{dim} NK cell subset was decreased in obese subjects. In addition, the frequency of CD56^{bright} NK cells expressing the activating NK cell receptor NKG2D as well as intracellular interferon (IFN)- γ was elevated in the obese study group. In contrast, the frequency of NKG2D- and IFN- γ -positive CD56^{dim} NK cells was lower in obesity compared to normal-weight individuals. Moreover, the expression of the activation marker CD69 was decreased in NK cells, which can be attributed to a reduction of CD69-positive CD56^{dim} NK cells in obese subjects. In conclusion, data reveal an impaired NK cell phenotype and NK cell subset alterations in obese individuals. This NK cell dysfunction might be one link to the higher cancer risk and the elevated susceptibility for viral infections in obesity.

Characterization of natural killer cells in colorectal tumor tissue of rats fed a control diet or a high-fat diet

Bähr, I., Pörtner, O. J., Glaß, M., Doberstein, H., Goritz, V., Hiller, G. G. R., Spielmann, J., Kielstein, H. (2020)

Ann Anat 233:151586

DOI: 10.1016/j.aanat.2020.151586

Abstract:

Background: Obesity is a major public health problem with an increasing prevalence reaching pandemic levels. The incidence and mortality for colorectal cancer is augmented in overweight and obese individuals. Previous studies demonstrated an impaired number, phenotype and functionality of natural killer (NK) cells under obese conditions. So far, the influence of obesity on NK cells in colorectal cancer tissue remained unclear. Therefore, the aim of the study was to investigate the occurrence and localization of NK cells in colorectal tumors of normal weight and diet-induced obese rats.

Methods: Wistar rats were fed a normal-fat diet (control) or a high-fat diet (HFD) to induce obesity. In half of the experimental groups azoxymethane (AOM) was injected to induce colorectal cancer. Tumors in colon and rectum were histopathologically classified in adenomas and adenocarcinomas and immunohistologically stained with the rat NK cell marker CD161. Occurrence and localization of NK cells were analyzed and quantified in the tunica mucosa and tunica submucosa of colorectal adenomas and the tunica submucosa of colorectal adenocarcinomas.

Results: NK cells are localized in the tunica mucosa and the tunica submucosa of colorectal tumors with NK cell accumulations as follicle-like aggregates especially in regions of the lamina muscularis mucosae and the lamina propria mucosae of the tunica mucosa as well as in regions of the tunica submucosa adjacent to the lamina muscularis mucosae. Although not statistically significant, the CD161 staining was clearly reduced in the tunica mucosa of colorectal tumors of rats fed a HFD compared to rats fed a control diet. Moreover, the CD161 staining in the tunica mucosa was positively correlated with the final body weight of AOM-treated rats independent of the supplied diet.

Discussion: For the first time, these results provide information about the localization and quantity of NK cells in colorectal tumor tissue of rats fed a control diet or high-fat diet. The slight reduction of NK cell number in colorectal tissue of rats fed a high-fat diet may contribute to an impaired tumor defense and the increased colorectal tumor outcome in diet-induced obese rats.

Characterization of surface receptor expression and cytotoxicity of human NK cells and NK cell subsets in overweight and obese humans

Naujoks, W., Quandt, D., Hauffe, A., Kielstein, H., Bähr, I.* , Spielmann, J.* (2020)

Front Immunol 11:573200

DOI: 10.3389/fimmu.2020.573200

Abstract:

Obesity is associated with an increased risk for several cancer types and an altered phenotype and functionality of natural killer (NK) cells. This study aimed to investigate the association of overweight and obesity with NK cell functions and receptor expression profiles in humans. Therefore, peripheral blood mononuclear cells were isolated from normal weight, overweight, and obese healthy blood donors. In depth analysis of immune cell populations and 23 different surface markers, including NK cell receptors, NK-cell-related markers as well as functional intracellular markers on total NK cells and NK subgroups were performed by multicolor flow cytometry. The data revealed a decreased expression of the activating NK cell receptors KIR2DS4 and NKp46 as well as an increased expression of the inhibitory NK cell receptors NKG2A and Siglec7 in overweight and obese compared to normal weight individuals. Additionally, the expression of the adhesion molecule CD62L and the maturation and differentiation marker CD27 was downregulated in NK cells of overweight and obese subjects. Furthermore, the cytotoxicity of NK cells against colorectal cancer cells was decreased in overweight and obese subjects. Investigations on underlying killing mechanisms demonstrated a reduced TRAIL expression on NK cells of obese subjects suggesting an impaired death receptor pathway in obesity. The present study gives new insights into an impaired functionality and phenotype of NK cells and NK cell subsets in overweight and obesity. These phenotypic alterations and dysfunction of NK cells might be an explanation for the increased cancer risk in obesity.

High-fat diet and feeding regime impairs number, phenotype and cytotoxicity of natural killer cells in C57BL/6 mice

Spielmann, J., Naujoks, W., Emde, M., Allweyer, M., Kielstein, H., Quandt, D., Bähr, I.
(2020)

Front Nutr 7:585693

DOI: 10.3389/fnut.2020.585693

Abstract:

Overweight and obesity are major public health challenges worldwide. Obesity is associated with a higher risk for the development of several cancer types, but specific mechanisms underlying the link of obesity and cancer are still unclear. Natural killer (NK) cells are circulating lymphoid cells promoting the elimination of virus-infected and tumor cells. Previous investigations demonstrated conflicting results concerning the influence of obesity on functional NK cell parameters in small animal models. The aim of the present study was to clarify potential obesity-associated alterations of murine NK cells *in vivo*, implementing different feeding regimes. Therefore, C57BL/6 mice were fed a normal-fat diet (NFD) or high-fat diet (HFD) under restrictive and *ad libitum* feeding regimes. Results showed diet and feeding-regime dependent differences in body weight, visceral fat mass and plasma cytokine concentrations. Flow cytometry analyses demonstrated significant changes in total cell counts as well as frequencies of immune cell populations in peripheral blood comparing mice fed NFD or HFD in an *ad libitum* or restrictive manner. Mice fed the HFD showed significantly decreased frequencies of total NK cells and the mature CD11b⁺CD27⁺ NK cell subset compared to mice fed the NFD. Feeding HFD resulted in significant changes in the expression of the maturation markers KLRG1 and CD127 in NK cells. Furthermore, real-time PCR analyses of NK-cell related functional parameters in adipose tissue revealed significant diet and feeding-regime dependent differences. Most notable, real-time cytotoxicity assays demonstrated an impaired cytolytic activity of splenic NK cells toward murine colon cancer cells in HFD-fed mice compared to NFD-fed mice. In conclusion, our data demonstrate that feeding a high-fat diet influences the frequency, phenotype and function of NK cells in C57BL/6 mice. Interestingly, restricted feeding of HFD compared to *ad libitum* feeding resulted in a partial prevention of the obesity-associated alterations on immune cells and especially on NK cells, nicely fitting with the current concept of an advantage for interval fasting for improved health.

The impact of high-fat diet and restrictive feeding on natural killer cells in obese-resistant BALB/c mice

Spielmann, J., Naujoks, W., Emde, M., Allweyer, M., Kielstein, H., Quandt, D., Bähr, I.
(2021)

Front Nutr 8:711824

DOI: 10.3389/fnut.2021.711824

Abstract:

Background: The association of obesity and an increased risk for severe infections and various cancer types is well-described. Natural killer (NK) cells are circulating lymphoid cells and promoters of the immune response toward viruses and malignant cells. As demonstrated in previous studies the phenotype and functionality of NK cells is impaired in obesity. So far, the majority of animal studies were exclusively performed using ad libitum feeding regimes and it remained unclear whether NK cell alterations are mediated by obesity-associated immunological changes or by direct effects of the dietary composition. Therefore, the aim of the present study was to characterize NK cells in the peripheral blood of obese-resistant BALB/c mice supplied a normal-fat diet (NFD) or high-fat diet (HFD), ad libitum or in a restrictive manner.

Methods: Twenty-eight BALB/c-mice were fed a NFD or HFD either ad libitum or in a restrictive feeding regime with 90% of the mean daily diet supply of the corresponding ad libitum group (each group n = 7). Blood and visceral adipose tissue were collected for flow cytometric analysis, analysis of plasma cytokine concentrations by multiplex immunoassay and real-time RT-PCR analyses. For statistical analyses two-way ANOVA with the factors “feeding regime” and “diet” was performed followed by a post-hoc Tukey’s multiple comparison test and to compare means of the four mouse groups.

Results: Ad libitum-feeding of a HFD in BALB/c mice has no influence on body weight gain, visceral fat mass, plasma cytokine concentrations, immune cell populations as well as the number, frequency and phenotype of NK cells. In contrast, restrictive feeding of a HFD compared to NFD led to significantly higher body weights, visceral fat mass and plasma interferon- γ concentrations which was associated with changes in the frequencies of granulocytes and NK cell subsets as well as in the surface expression of NK cell maturation markers.

Conclusion: Results demonstrate for the first time that HFD-induced alterations in NK cells are consequences of the obese associated immunological profile rather than a direct effect of the dietary composition. These data can help to clarify the increased risk for cancer and severe infections in obesity.

Obesity, colorectal cancer and MACC1 expression: A possible novel molecular association

Bähr, I., Jaeschke, L., Nimptsch, K., Janke, J., Herrmann, P., Kobelt, D., Kielstein, H., Pischon, T., Stein, U. (2022)

Int J Oncol 60:17

DOI: 10.3892/ijo.2022.5307

Abstract:

Obesity is a major and increasing public health concern, associated with an increased risk of and mortality from several types of cancer including colorectal cancer (CRC), being associated with cancer progression, metastasis and resistance to therapy. It was hypothesized that the expression of cancer/metastasis-inducing gene metastasis-associated in colon cancer 1 (MACC1) is increased in obesity, which may constitute a link to obesity-induced cancer. The present study thus analyzed circulating cell-free plasma MACC1 expression levels in human obese (vs. normal weight) adult individuals from independent studies, namely the Martin Luther University (MLU) study (n=32) and the Metabolic syndrome study (MetScan, Berlin) (n=191). Higher plasma MACC1 levels were found in obese individuals, increasing with a greater body fat mass and body mass index; these levels were predominantly observed in male and to a lesser extent in female individuals, although the results were not significant. A reduction in body fat mass following dietary intervention and physical exercise decreased the MACC1 expression levels in the MLU study. Furthermore, Wistar rats with diet-induced obesity exhibited slightly increased plasma MACC1 levels compared with rats of normal weight. The obese Wistar rats exposed to azoxymethane to induce colon cancer exhibited a more severe colon tumor outcome, which was associated with significantly increased MACC1 levels compared with their non-obese littermates. On the whole, the findings of the present study suggest an association between MACC1 and obesity, as well as with obesity-induced CRC.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die hier vorliegende Habilitationsschrift selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Halle, den 26.01.2023

Dr. Ina Bähr

Erklärung über frühere Habilitationsversuche

Ein Habilitationsverfahren wurde an keiner anderen Universität eröffnet oder beantragt. Frühere Habilitationsversuche sind nicht unternommen worden.

Halle, den 26.01.2023

Dr. Ina Bähr

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Dr. troph. Ina Bähr (geb. Stumpf)
geboren am 23.09.1982 in Schkeuditz

Schulbildung und Studium

Aug. 1993 - Juli 2001 Schulausbildung und Abitur an der Thomasschule - Gymnasium zu Leipzig

Okt. 2001 - Juli 2006 Studium der Ernährungswissenschaften an der Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg
Abschluss des Studiums mit Diplomarbeit

Promotion und wissenschaftlicher Werdegang

Okt. 2006 - Juli 2009 Promotionsstudium am Institut für Anatomie und Zellbiologie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Betreuer: Prof. Dr. E. Peschke

April 2009 - Juni 2011 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Anatomie und Zellbiologie, Arbeitsgruppe Prof. Dr. E. Peschke
Forschungsthema: Einfluss von Melatonin auf die Glukagonsekretion pankreatischer α -Zellen

Juli 2011 - Aug. 2020 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Anatomie und Zellbiologie, Arbeitsgruppe Prof. Dr. H. Kielstein
Forschungsthema: NK-Zell-Physiologie bei Adipositas und kolorektalem Karzinom

Sept. 2017 Qualifikation und Abschlussprüfung zur Fachanatomin

ab Sept. 2020 Berufsschullehrerin an der Medizinischen Berufsschule der Universitätsklinik Leipzig, Fachbereich Diätassistenz

Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. Heike Kielstein, Mentorin, Arbeitsgruppenleiterin und Leiterin des Instituts für Anatomie und Zellbiologie der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg bedanken. Ich danke herzlich für das entgegengesetzte Vertrauen, die uneingeschränkte professionelle und persönliche Unterstützung und Förderung meiner wissenschaftlichen und anatomischen Ausbildung.

Ein aufrichtiger Dank gilt meinem Doktorvater, Herr Prof. Dr. Elmar Peschke, der mir den Weg in Wissenschaft und Anatomie geebnet hat und mich seit meiner Promotionsarbeit bei der Umsetzung fachlich und persönlich beraten, begleitet und unterstützt hat.

Ich bedanke mich bei allen Kolleginnen und Kollegen des Instituts für Anatomie und Zellbiologie für die allzeit freundliche und familiäre Atmosphäre und die gegenseitige Unterstützung.

Ganz besonders herzlich danke ich Frau Dr. Julia Spielmann für die großartige, kollegiale und freundschaftliche Zusammenarbeit in Lehre und Forschung, die entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Ebenso bedanke ich bei Susann Möschter, Franziska Knöfel und Candy Rothgänger-Strube für ihre Hilfsbereitschaft und die hervorragende technische Unterstützung im Labor.

Meinen ehemaligen und aktiven Doktorandinnen und Doktoranden danke ich sehr für die ausgezeichnete Durchführung der *in vitro*- und *in vivo*-Versuche und die konstruktive wissenschaftliche Zusammenarbeit.

Für die Bereitstellung der finanziellen Mittel zur Umsetzung der experimentellen Arbeiten danke ich dem Wilhelm-Roux-Programm der Medizinischen Fakultät, der Deutschen Diabetes-Stiftung und der Dr. Werner Jackstädt-Stiftung.

Nicht zuletzt geht mein wichtigster Dank an meine Freunde und Familie, allen voran an meinen Mann Christian und unsere Kinder Anna, Julian und Marie, die mir täglich zeigen, was wirklich wichtig im Leben ist. Danke für Eure liebevolle Unterstützung in allen Lebenslagen.