

## Summary

The hydroxy-carboxylic acid receptor 2 (HCA2) is a G-protein-coupled receptor for which the ketone  $\beta$ -hydroxybutyrate and the short chain fatty acid butyrate are known agonists. Both are endogenous compounds generated during fatty acid metabolism and by the intestinal microflora, respectively. Nicotinic acid (NA, vitamin B<sub>3</sub>) is another agonist of HCA2 and high doses of NA are used for the treatment of lipid disorders. Monomethyl fumarate (MMF), the bioactive *in vivo* metabolite of the prodrug dimethyl fumarate (DMF) was identified as an agonist of the HCA2 receptor. DMF-based therapies have been used in Germany since 1997 for systemic therapy of moderate to severe plaque psoriasis. Although HCA2-mediated effects of NA have been analysed extensively, little is known about the role of HCA2 signalling in the treatment of psoriasis. Despite its long-term use in psoriasis and the identification of HCA2's role in a common side effect of NA and DMF treatment, flush, the role of HCA2 for the therapeutic effect of oral DMF treatment in psoriasis is not yet known.

This work demonstrated that oral DMF treatment in psoriasis patients led to a rapid improvement of psoriasis lesions. The reduction of skin inflammation was accompanied by a decrease in peripheral leukocytes, mainly neutrophils. Neutrophils express HCA2, and it was assumed that the decrease of these cells was mediated by HCA2-dependent mechanisms. The data showed that apoptosis was not induced in neutrophils and can therefore not explain the reduction of this cell type. By using the Imiquimod model of psoriasis-like skin inflammation employing HCA2 expressing and deficient mice, the therapeutic effect of oral DMF treatment was confirmed to be dependent on this receptor. In these experiments oral DMF did not affect immune cells but changed the expression of keratinocyte-derived pro-inflammatory cytokines. Interestingly, mice kept on a ketogenic diet to raise blood  $\beta$ -hydroxybutyrate levels showed less skin inflammation that was independent of HCA2 expression. The use of bone marrow chimeras demonstrated that oral DMF treatment mediated its therapeutic effect through HCA2 expressed by radio-resistant cells, most likely keratinocytes. *In vitro* analysis showed that MMF treatment reduced the proliferation of keratinocytes.

In conclusion, this work showed that the metabolic sensor HCA2 mediated the therapeutic effect of oral DMF on psoriasis skin inflammation by directly affecting the proliferation of keratinocytes.

## Zusammenfassung

Der Hydroxy-Carboxylsäure Rezeptor 2 (HCA2) ist ein G-Protein-gekoppelter Rezeptor, für den das Keton  $\beta$ -Hydroxybutyrat und die kurzkettige Fettsäure Butyrat als Agonisten bekannt sind. Beide sind endogene Verbindungen, die während des Fettsäurestoffwechsels bzw. durch die Mikroflora des Darms erzeugt werden. Niacin (NA, Vitamin B3) ist ein weiterer Agonist von HCA2, und hohe Dosen von NA werden zur Behandlung von Lipidstörungen eingesetzt. Monomethylfumarat (MMF), der bioaktive Metabolit des Fumarsäureesters Dimethylfumarat (DMF), wurde ebenso als ein Agonist des HCA2 Rezeptors identifiziert. DMF-basierte Therapien werden in Deutschland seit 1997 zur systemischen Therapie der mittelschweren bis schweren Psoriasis eingesetzt. Obwohl die HCA2-vermittelten Effekte von NA umfassend analysiert wurden, ist über die Rolle von HCA2 bei der Behandlung der Psoriasis nur wenig bekannt. Trotz seiner langfristigen Anwendung bei Psoriasis und der Identifikation der Rolle von HCA2 bei einer häufigen Nebenwirkung der NA- und DMF-Behandlung, dem Flush, ist die Bedeutung von HCA2 für die therapeutische Wirkung der oralen DMF-Behandlung bei Psoriasis noch nicht bekannt.

Diese Arbeit zeigt, dass die orale DMF-Behandlung bei Psoriasis-Patienten zu einer raschen Verbesserung der Psoriasis-Läsionen führte. Die Verringerung der Hautentzündung ging mit einer Abnahme der peripheren Leukozyten, hauptsächlich der neutrophilen Granulozyten, einher. Neutrophile exprimieren HCA2 und es wurde angenommen, dass der Rückgang dieser Zellen durch HCA2-abhängige Mechanismen vermittelt wurde. Die Daten zeigten, dass die vermutete Apoptose bei Neutrophilen nicht induziert wurde und daher die Abnahme dieses Zelltyps nicht erklären kann. Durch die Verwendung des Imiquimod-Modells der Psoriasis-ähnlichen Hautentzündung mit HCA2-exprimierenden und -defizienten Mäusen wurde bestätigt, dass die therapeutische Wirkung der oralen DMF Behandlung von diesem Rezeptor abhängig ist. In den Experimenten wirkte orales DMF nicht auf die Immunzellen, sondern veränderte die Expression von Keratinozyten-spezifischen pro-inflammatorischen Zytokinen. Mäuse unter ketogener Diät zeigten erhöhte  $\beta$ -Hydroxybutyratspiegel und eine Verbesserung der Hautentzündung, wenn auch unabhängig von HCA2. Die Verwendung von Knochenmarkchimären zeigte, dass die orale DMF Behandlung ihre therapeutische Wirkung durch den HCA2 Rezeptor vermittelte, der von radio-resistenten Zellen, höchstwahrscheinlich Keratinozyten, exprimiert wird. Die *in-vitro*-Analyse zeigte, dass die MMF Behandlung die Proliferation von Keratinozyten reduzierte.

Zusammenfassend zeigte diese Arbeit, dass der HCA2 Rezeptor die therapeutische Wirkung von oralem DMF auf die psoriasiforme Entzündung vermittelte, höchstwahrscheinlich durch direkte Hemmung der Proliferation von Keratinozyten.