



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**TGF- β 1 moduliert die Expression des hepatischen
Wachstumsfaktors HGF/SF in Gehörgangscholesteatom-
Zellkulturen**

Autor: Suzanne Sophia Alfano
Institut / Klinik: Universitäts-Hals-Nasen-Ohren-Klinik
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. R. Naim

Das Gehörgangscholesteatom (EACC) ist eine destruktive, aber benigne Erkrankung der Epithelzellen des äußeren Gehörgangs, deren Pathogenese bisher nur unzureichend erforscht ist. Störungen im Wachstumsverhalten und in der Angiogenese könnten eine wesentliche Rolle in der Pathogenese dieser Erkrankung haben. Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb einerseits, die Koexpression relevanter Angiogenese- und Wachstumsfaktoren wie dem Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), dem Hepatocyte Growth Factor/Scatter Factor (HGF/SF) und seinem Rezeptor c-Met im EACC zu bestimmen. Insbesondere das HGF/SF könnte auf dem Boden seiner mitogenen, motogenen und angiogenen Eigenschaften eine zentrale Rolle in der Pathogenese des EACC spielen. Deshalb sollte in einem zweiten Schritt die Hypothese überprüft werden, ob durch das biphasische Zytokin Transforming Growth Factor- β 1 (TGF- β 1), dass sowohl proliferative als auch antiproliferative Wirkung hat, die Konzentration von HGF/SF in EACC-Zellkulturen moduliert werden kann.

Native EACC-Zellverbände, die zuvor von EACC-Patienten ($n=17$) gewonnen worden waren, wurden zunächst immunhistochemisch auf die Anwesenheit und Lokalisation von VEGF, HGF/SF und dessen Rezeptor c-Met untersucht und die Ergebnisse mit gesunder Gehörgangshaut derselben Patienten verglichen. Desweiteren wurden EACC-Zellkulturen mit ansteigender Konzentration von TGF- β 1 Antisense inkubiert und dessen Auswirkung auf die HGF/SF Expression sowohl auf Protein- (ELISA, Western Blot) und auf mRNA-Ebene (RT-PCR) beobachtet. Zur Bestätigung des Experiments wurden im Umkehrschluss die EACC-Zellkulturen mit exogenem TGF- β 1 in steigender Konzentration über 48 Stunden inkubiert und ebenfalls anschließend die HGF/SF-Konzentration im Überstand mittels ELISA bestimmt.

Immunhistologisch konnte im Vergleich zu den Kontrollen eine Überexpression der untersuchten angiogenen Faktoren im EACC-Zellverband beobachtet werden. HGF/SF lies sich vorwiegend auf Fibroblasten und c-Met vornehmlich auf Keratinozyten nachweisen. Die funktionellen in vitro Untersuchungen zeigten mit steigender Dosierung von TGF- β 1 Antisense eine signifikante Erhöhung der HGF/SF Konzentration im Überstand von kultivierten EACC-Keratinozyten im Vergleich zu Kontrollen ($p<0,05$). Analog hierzu wurde die Expression von HGF/SF durch TGF- β 1 Antisense sowohl auf Protein- als auch auf mRNA-Ebene im Vergleich zu Kontrollen deutlich hochreguliert. Nach Inkubation mit exogenem TGF- β 1 kam es im Umkehrschluss konzentrationsabhängig zu einer signifikanten Reduktion der HGF/SF Konzentration ($p<0,05$) im Überstand.

Es konnte mit diesen Ergebnissen gezeigt werden, dass TGF- β 1 eine wesentliche Rolle in der Regulation von HGF/SF in EACC-Keratinozyten in vitro spielt. Eine Inhibition von TGF- β 1 führte zu einer Hochregulation von HGF/SF, während die Zugabe von exogenem TGF- β 1 gegenteilige Effekte zeigte. HGF/SF könnte als zentraler Wachstumsfaktor in der Pathogenese des EACC relevant sein und über TGF- β 1 Modulation kausal orientierte therapeutische Ansatzpunkte bieten.