



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

**Interferon- $\gamma$  vermittelte Apoptose und Expression des Interleukin-18 Bindungsproteins in intestinalen Epithelzellen : Bedeutung für die Pathogenese chronisch entzündlicher Darmerkrankungen**

Autor: Daniel Hermann Schuhmann  
Institut / Klinik: II. Medizinische Universitätsklinik  
Doktorvater: Prof. Dr. U. Böcker

Die Ätiologie der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) ist ungeklärt. Einer der Schlüsselmediatoren in der Pathogenese der CED ist das Interferon (IFN)- $\gamma$ , welches sowohl pro- als auch antiinflammatorische Effekte vermittelt. IFN- $\gamma$  stellt einen potenten Induktor des antiinflammatorisch wirkenden Interleukin (IL)-18 Bindungsproteins (BP) in intestinalen Epithelzellen dar, wobei aus der Anwesenheit von IFN- $\gamma$  gleichzeitig Zelltod resultiert.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den durch IFN- $\gamma$  vermittelten Zelltod auf zellulärer und subzellulärer Ebene zu charakterisieren. Darauf aufbauend sollte durch selektiven Eingriff in die beteiligten Signaltransduktionskaskaden die IFN- $\gamma$  assoziierte IL-18BP Sekretionssteigerung bei gleichzeitigem Erhalt der Zellvitalität erreicht werden. Weiterhin sollte die Expression von IFN- $\gamma$  und des IL-18BP *in vivo* untersucht werden.

Die Untersuchung des durch IFN- $\gamma$  vermittelten Zelltodes erfolgte an etablierten Zelllinien (HT-29, Caco-2, T84) mittels Phasenkontrastmikroskopie, *Annexin*-Färbung, DNA-Leiter Analyse sowie Western Blot Analyse für die Aktivierung von Caspase-3 und Spaltung der *poly-ADP-ribose polymerase* (PARP). Hierbei konnte der durch IFN- $\gamma$  verursachte Zelltod als zeit- und dosisabhängige Apoptose identifiziert werden. Die Expression pro- und antiapoptotischer Proteine wurde mittels Western Blot und PCR analysiert. Hierbei zeigte sich eine verstärkte Induktion des proapoptotischen Proteins *Bcl antagonist of death* (Bad), während IFN- $\gamma$  die Expression der antiapoptotischen Proteine *B-cell lymphoma* (Bcl)-XL und Bcl-2 nicht alterierte. Die Inhibition der IFN- $\gamma$  abhängigen Apoptose erfolgte mittels des Janus Kinase (JAK) Tyrosin-Kinaseinhibitors AG490, des Caspase-3 Inhibitors Z-DEVD-FMK und mit Hilfe von Inhibitoren der Mitogen-aktivierten Proteinkinase p38 mit SB203580 sowie der c-Jun N-terminalen Kinase (JNK) mit SP600125. Eine Inhibition der Aktivierung der Caspase-3 und von p38 erlaubte, die durch IFN- $\gamma$  induzierte Apoptose zu supprimieren, bei gleichzeitigem Erhalt des positiven Einflusses von IFN- $\gamma$  auf die Expression des IL-18BP, welches sowohl in Kulturüberständen als auch in Zellysaten mittels ELISA detektiert wurde. Die Inhibition der JNK-Kinase als auch früher IFN- $\gamma$  abhängiger Signaltransduktion mit AG490 supprimierte zwar ebenfalls die durch IFN- $\gamma$  induzierte Apoptose, bei allerdings ebenfalls verminderter Expression des IL-18BP. Die Expressionsanalyse von IFN- $\gamma$  und des IL-18BP in Überständen mukosaler Biopsien von Patienten mit und ohne CED bestätigte den wichtigen Einfluss von IFN- $\gamma$  auf die Pathogenese des Morbus Crohn (MC), da es bei diesen Patienten vor allem in entzündeten Arealen verstärkt nachweisbar war. Dass IFN- $\gamma$  auch den Entzündungsprozess bei Patienten mit Colitis ulcerosa (CU) perpetuieren kann, zeigen Ergebnisse dieser Arbeit, die eine signifikant erhöhte Expression dieses Zytokins in entzündeten Arealen im Vergleich mit nicht entzündeten Darmabschnitten dieser Patienten nachwies. Die IL-18BP Expression differierte erheblich im Vergleich gesunder Kontrollen und Patienten mit CED. Vor allem in entzündeten Arealen von Patienten mit MC lagen die IL-18BP Spiegel signifikant über denen von Patienten mit CU und gesunder Kontrollen. Stimulation von intestinalen Biopsien mit IFN- $\gamma$  führte zwar zu einer vermehrten Expression des IL-18BP, wobei diese im Vergleich zur IFN- $\gamma$  abhängigen Expression in Zelllinien aber nur marginal war.

Die im Rahmen dieser Dissertation gewonnenen Erkenntnisse lassen den Schluss zu, dass eine selektive Inhibition der IFN- $\gamma$  vermittelten Apoptose, bei gleichzeitigem Erhalt des positiven Einflusses auf die Stöchiometrie pro- und antiinflammatorischer Mediatoren, dazu beitragen könnte, die Integrität der mukosalen Barriere bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen zu bewahren.