

Kirsten Elisabeth Thiele
Dr. med.

Perpetuierung chronisch entzündlicher Reaktionen am Beispiel von Morbus Crohn

Geboren am 24.02.1974 in Freiburg i.Br.
Reifeprüfung am 19.05.1993 in Bruchsal
Studiengang der Fachrichtung Medizin von WS 1993 bis SS 1999
Physikum am 29.08.1995 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Strasbourg und Heidelberg
Staatsexamen am 19.10.1999 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. P.P. Nawroth

Morbus Crohn ist eine chronisch entzündliche Darmerkrankung des Menschen, dessen Ätiologie und Pathogenese als komplexer Prozess, der noch immer nicht vollständig aufgeklärt werden konnte, anzusehen ist.

Als bedeutsam gelten Veränderungen in der Produktion von Zytokinen durch Lymphozyten und Makrophagen. So kann beispielsweise TNF α -bei Morbus Crohn vermehrt gebildet- durch kurzfristige Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B die Transkription verschiedener Gene wie Zytokine, Leukozytenadhäsionsmoleküle und Akute-Phase Proteine induzieren und somit ein Entzündungsgeschehen einleiten.

Gewöhnlich liegt NF- κ B als Komplex mit seinem Inhibitor I κ B α im Zytoplasma einer Zelle und wird durch diese Bindung am Übertritt in den Zellkern gehindert. Erst die Aktivierung der Zelle durch Zytokine und andere pathogenetische Stimuli, wie sie im Rahmen von Morbus Crohn auftreten (z.B. Bakterien, oxidativer Stress, LDL), führt über die Phosphorylierung und Degradation von I κ B α zur Freisetzung von NF- κ B und dessen Translokation in den Zellkern. Neben zahlreichen für ein Entzündungsgeschehen verantwortlichen Genen besitzt auch das I κ B α -Gen eine NF- κ B-Erkennungssequenz, so dass die Aktivierung von NF- κ B über den Weg NF- κ B-induzierter Neusynthese von I κ B α innerhalb kürzester Zeit beendet werden kann.

Inzwischen beschreiben zahlreiche Studien eine zentrale Rolle des Transkriptionsfaktors NF- κ B in chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wie dem Morbus Crohn. Kürzlich konnte sogar gezeigt werden, dass Oligonukleotide-Antisense zu NF- κ Bp65 zu einer Reduktion der inflammatorischen Darmerkrankung im TNBS-Modell der Maus führen.

Demnach scheint über den Initiierungsprozess hinaus auch länger anhaltende NF- κ B-Aktivierung ein entscheidender Schritt in der Pathogenese chronisch entzündlicher Darmerkrankungen zu sein. Bisher ist erst aus in-vitro Daten ein Mechanismus bekannt, der langfristige Aktivierung von NF- κ B erklären kann: Der Rezeptor RAGE vermittelt über die Induktion einer exzessiven de-novo Transkription von NF- κ Bp65, und damit der Kompensation autoregulatorischer Mechanismen eine perpetuierte NF- κ B-Aktivierung.

RAGE steht für Receptor for Advanced Glycation End products (AGEs) und wird durch NF- κ B, zum Beispiel nach TNF α -Stimulation, induziert. AGEs vermitteln diabetische Spätschäden abhängig von der AGE-RAGE Interaktion. Also ist RAGE ein Rezeptor, der eine chronische Zellschädigung vermittelt, und zwar nicht nur im Verlauf eines Diabetes mellitus, sondern auch in zahlreichen anderen entzündlichen Krankheiten. Neben AGEs bindet RAGE auch Mediatoren inflammatorischer Zellen wie das Makrophagenprodukt p12 und Carboxymethyllysine, dessen vermehrte Bildung bei Morbus Crohn bereits beschrieben worden ist.

In der vorliegenden Arbeit wurde RAGE im Darmgewebe von Morbus Crohn-Patienten histologisch, auf mRNA- und Proteinebene, nachgewiesen. Es zeigte sich in Endothelzellen, mononukleären Zellen, glatten Muskelzellen und Epithelzellen eine starke RAGE-Expression, die in allen untersuchten Zelltypen signifikant höher ausfiel als in der Kontrollgruppe. Weiterhin liess sich eine zelluläre Kolo-kalisation, ebenso wie eine positive Korrelation in Höhe und Stärke zur NF- κ B- Expression feststellen, bei entsprechend gegensätzlichem Verhalten des Inhibitors I κ B α . Diese histologischen Befunde können die Kausalität und RAGE-Abhängigkeit der Zellschädigung bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen noch nicht beweisen; dennoch lässt sich -vor dem Hintergrund der in-vitro Daten- ein kausaler Zusammenhang zwischen der Expression von RAGE und langfristiger NF- κ B-Aktivierung vermuten und somit ein neues Modell zum Verständnis der Pathogenese chronisch entzündlicher Reaktionen bei Morbus Crohn postulieren: Demnach wird ein Entzündungsgeschehen durch zytokin-vermittelte kurzfristige NF- κ B-Aktivierung eingeleitet und über einen RAGE-abhängigen Pathway langfristiger NF- κ B-Aktivierung perpetuiert. Neben der definitiven Beweisführung wird die Aufklärung des Liganden von RAGE bei Morbus Crohn die Aufgabe zukünftiger Forschung auf diesem Gebiet sein.

Zur kritischen Evaluation der Daten, und um weiteren Aufschluß über die Bedeutung des Transkriptionsfaktors NF- κ B bei Morbus Crohn zu gewinnen, wurde die Modulierbarkeit des NF- κ B/I κ B-Systems durch Glukokortikoide immunhistologisch, im EMSA und im Western Blot untersucht.

Glukokortikoide, Steroidhormone mit stark immunsuppressiver und anti-inflammatorischer Wirkung, werden häufig in der Therapie einer ganzen Reihe chronischer Krankheiten, darunter auch chronisch entzündliche Darmkrankheiten wie Morbus Crohn, eingesetzt.

Die molekularen Grundlagen, die den therapeutischen Effekten von Glukokortikoiden bei chronischer Entzündung zugrunde liegen, sind nur bedingt verstanden. Zumindest teilweise scheint ihre Wirkung allerdings auf eine Glukokortikoid-abhängige Unterdrückung NF- κ B-vermittelter Genexpression zurückzuführen zu sein, welche entweder durch direkte Interaktion mit der NF- κ B-Untereinheit p65, oder über Hochregulation des Inhibitors I κ B α zustande kommen kann.

In der vorliegenden Arbeit zeigte reseziertes Darmgewebe von Patienten unter Glukokortikoidtherapie signifikant niedrigere Level an nukleärem NF- κ Bp65 in mononukleären, Endothelzellen und Epithelzellen als Gewebe von CDAI-gematchten Patienten, die keine Glukokortikoide eingenommen hatten. Nukleäres NF- κ Bp65 korrelierte dabei exakt mit dem CDAI- Index ($r=1$ in beiden Gruppen), was ein weiteres Mal die Bedeutung von NF- κ B bei Morbus Crohn unterstreicht.

Parallel zu geringerer nukleärer Translokation von NF- κ Bp65 fanden sich höhere I κ B α -Level in Endothelzellen, aber nicht in infiltrierenden mononukleären Zellen, und damit eine zellspezifische Induktion der I κ B α -Expression durch Glukokortikoide.

Dieser Befund ist vor allem unter zwei Aspekten zu diskutieren:

Zunächst spricht er -beim Studium komplexer Krankheitsprozesse- gegen die Focussierung auf einzelne Zelltypen (bei Morbus Crohn vor allem mononukleäre Zellen) und unterstreicht die Bedeutung anderer Zelltypen, insbesondere die von Endothelzellen, im entzündlich alterierten Darm, ebenso wie Zell-Zell-Interaktionen.

Darüber hinaus erfordert er eine kritische Beurteilung von in-vitro Daten, diese zeigten nämlich einen Effekt von Glukokortikoiden auf die I κ B α -Synthese an mononukleären Zellen, nicht aber an Endothelzellen und widersprechen damit der Situation in vivo. Da oft auch in-vitro Forschung lediglich an einzelnen Zelltypen erfolgt, sich aber vor allem meist nur über einen sehr kurzen Zeitraum erstreckt, kann sie sich als insuffizient erweisen, die komplexe physiologische Situation, die zu lebenslanger, chronischer Krankheit führt, zu erfassen.

Da die in die Untersuchung eingeschlossenen Patienten hinsichtlich ihres CDAI gematcht waren, also eine vergleichbare klinische Entzündungs- und Krankheitsaktivität zeigten, spricht dies bei nachgewiesenem Rückgang nukleärer Translokation von NF- κ Bp65 unter Glukokortikoidtherapie dafür, dass auch der Transkriptionsfaktor NF- κ B nur ein Teil der Entzündungskaskade, die das klinische Bild des Morbus Crohn bestimmt, ist, seine Bedeutung sich also in einem komplexen Zusammenspiel verschiedener pathogenetisch interessanter Mediatoren bewegt.