

Lisa Scheu

Dr. med.

## **Die Expression extrazellulärer Matrixproteine in der Lamina propria während der Initiation einer Entzündungsreaktion im menschlichen Darm**

Fach/Einrichtung: Immunologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Stefan Meuer

Im Rahmen von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen kommt es zu rezidivierenden oder permanent aktiven Entzündungen des Gastrointestinaltrakts. Dabei sind sowohl die Mechanismen, die zur Chronifizierung der intestinalen Inflammation führen, als auch die molekularen Prozesse der frühen akuten Entzündung noch nicht ausreichend verstanden.

Ziel dieser Arbeit war es, Veränderungen des Proteoms in der humanen Lamina propria im Rahmen früher intestinaler Entzündungsreaktionen zu charakterisieren. Anhand eines Vergleichs mit Genexpressionsdaten sollte ein Einblick in translational und posttranslational regulierte intestinale Entzündungsprozesse gewonnen werden, die bislang durch Genexpressionsanalysen nicht erfasst wurden.

Hierfür wurde ein humanes intestinales Organkulturmodell (Loss-of-Epithelial Layer-Modell) verwendet, bei dem eine Entzündungsreaktion in gesunder humaner Lamina propria des Kolons durch den Verlust der epithelialen Barriere hervorgerufen wird. Anschließend wurde die Lamina propria aus entzündeter und homöostatischer Mukosa mittels Lasermikrodissektion isoliert und einer massenspektrometrischen Proteomanalyse unterzogen. Dabei konnten 6088 Proteine detektiert werden. Die vergleichende Analyse der Proteinexpressionsdaten zeigte, dass es während der intestinalen Entzündung *in vitro* bereits zu einem frühen Zeitpunkt zu einer signifikanten Hochregulation von insgesamt 85 unterschiedlichen Proteinen innerhalb des Datensets detektierter Proteine kommt.

Der Vergleich der Gen- und Proteinexpressionsanalyse im Loss-of-Epithelial Layer-Modell ergab für die meisten differentiell regulierten Proteine keine Hochregulation auf Transkriptionsebene, was für eine translationale bzw. posttranslationale Kontrolle der Proteinexpression spricht. Die Betrachtung der hochregulierten Proteine mittels bioinformatischer Datenbanken zeigte, dass ungefähr ein Drittel dieser Proteine mit der

extrazellulären Matrix assoziiert ist. Darunter fallen insbesondere Strukturproteine wie Laminine, Collagene sowie Integrine. Zusätzlich konnten die Prozesse der EZM-Regulation, Adhäsion, sowie Angio- und Neurogenese als wichtige biologische Vorgänge früher intestinaler Entzündungsreaktionen durch bioinformatische Analysen vorausgesagt werden.

Mittels Immunfluoreszenzfärbungen von Gewebeschnitten des Loss-of-Epithelial Layer-Modells ließ sich die massenspektrometrisch nachgewiesene Hochregulation der Expression von Collagen VI, Laminin und Collagen IV während der Initiation einer Entzündungsreaktion validieren. Insbesondere für Collagen VI zeigte sich eine starke Expressionszunahme im Bereich der interstitiellen Matrix. Immunfluoreszenzanalysen von Gewebeschnitten des Loss-of-Epithelial Layer-Modells unter Anwesenheit von Inhibitoren ergaben Hinweise auf eine translationale, vor allem aber auf eine posttranslationale Kontrolle der Proteinexpression.

Die im Modell beobachtete Hochregulation von Collagen VI und Laminin konnte darüber hinaus bei intestinalen Entzündungen in Kolongewebe von Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen in vivo, in Übereinstimmung mit Ergebnissen früherer Studien, bestätigt werden. Eine Hochregulation von Collagen VI konnte dabei nicht nur wie bislang beschrieben in fibrotischem Gewebe, sondern auch in regulär strukturiertem Gewebe nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit deuten auf eine wichtige Funktion der extrazellulären Matrix während der Induktionsphase intestinaler Entzündungen hin. Die veränderte Expression bestimmter extrazellulärer Matrixproteine zeichnet das Bild einer aufkommenden, zweiten Barriere. Diese fördert die mechanischen und antibakteriellen Eigenschaften der Mukosa, den Prozess der Gewebereparatur und somit das Wiedererlangen der intestinalen Homöostase nach einer Gewebeschädigung.

Darüber hinaus wird die Bedeutung der extrazellulären Matrix im Rahmen von chronischen Darmentzündungen durch die beobachtete Modulation von Collagen VI und Laminin in entzündlich veränderter Mukosa unterstützt. Dabei könnte die hochregulierte extrazelluläre Matrix auch innerhalb des chronischen Entzündungsprozesses der Verstärkung der Barriere-Eigenschaften des Darms dienen. Gleichzeitig deuten fibrotische Umbauprozesse auf eine pathophysiologisch relevante Dysregulation der extrazellulären Matrix bei diesen Erkrankungen hin.

Die Erkenntnisse dieser Arbeit bilden eine Basis für zukünftige funktionelle Studien, die auf eine weitere Charakterisierung der Rolle der extrazellulären Matrix sowohl in frühen als auch in chronischen Stadien der intestinalen Entzündung abzielen. Insbesondere eröffnen sie die Perspektive extrazellulärer Matrix-basierter Therapiemöglichkeiten bei frühen Stadien von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. Weiterführende Analysen translationaler und post-translationaler Kontrollmechanismen der Proteinexpression bei intestinalen Entzündungen könnten die Grundlage für neue Therapieansätze darstellen.