

Martina Werle
Dr. med.

Einfluß der Acetylsalicylsäure auf das Expressionverhalten von Zelloberflächenmolekülen humaner Endothelzellen

Geboren am 25.06.1970 in Frankfurt am Main
Reifeprüfung am 11.06.1990 in Bad Homburg v.d.H.
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1990 bis WS 1997
Physikum am 23.03.1993 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 28.11.1997 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. J. Kreuzer

Vaskuläre Erkrankungen einschließlich Arteriosklerose, Restenose nach Ballonangioplastie und Transplantatvaskulopathie zeichnen sich durch eine chronische Entzündungsreaktion der betroffenen Gefäße aus, die sowohl durch freigesetzte inflammatorische Zytokine als auch durch eine vaskuläre HCMV-Infektion unterhalten werden kann. Eine dadurch induzierte Aktivierung des Gefäßendothels kann in diesem Zusammenhang sowohl mit einer Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B als auch mit einer veränderten Expression inflammatorischer Oberflächenmoleküle assoziiert sein. Nachdem vor kurzem gezeigt werden konnte, daß Salicylate neben ihrer hemmenden Wirkung auf die Cyclooxygenase-abhängige Prostaglandinsynthese, welche bisher für die protektive Wirkung dieser Substanz in der Pathogenese vaskulärer Erkrankungen verantwortlich gemacht wurde, auch zu einer Hemmung von NF- κ B in TNF- α -aktivierten Endothelzellen führte, war es Ziel der vorliegenden Arbeit:

1. Die Effekte der inflammatorischen Mediatoren IL-1, IL-4, IFN- γ , TNF- α und LPS als auch den Einfluß einer HCMV-Infektion auf das Expressionsverhalten von Adhäsionsmolekülen, MHC-Molekülen und kostimulatorischen Oberflächenmolekülen in humanen Endothelzellen zu charakterisieren.
2. Den Einfluß von ASS auf die Zytokin-, Endotoxin- und HCMV-induzierte Expression dieser Oberflächenmoleküle zu untersuchen.

Nach der durchflußzytometrischen Quantifizierung der Antigenexpression konnte dabei gezeigt werden, daß die Expression inflammatorischer endothelialer Oberflächenmoleküle sowohl durch Zytokine und das bakterielle Endotoxin LPS als auch durch eine HCMV-Infektion differentiell regulieren werden kann. Während IL-1, TNF- α und LPS zu einer generalisierten Hochregulation bzw. Neu-Induktion der endothelialen Adhäsionsmoleküle ICAM-1, VCAM-1 und E-Selektin führten, konnten IL-4 und IFN- γ eine lediglich selektive Expressionszunahme von ICAM-1 und VCAM-1 vermitteln. Regulatorische Effekte auf MHC-Moleküle ließen sich lediglich in IFN- γ -, TNF- α - und LPS-aktivierten Endothelzellen nachweisen. IFN- γ führten dabei zu einer signifikanten Zunahme der MHC Klasse I und II Expression, TNF- α und LPS konnten demgegenüber eine nur selektive Expressionssteigerung von MHC Klasse I Molekülen induzieren. Während die endotheliale CD 40 Expression durch TNF- α und IFN- γ hochreguliert werden konnte, ließen sich in humanen Endothelzellen keine Zytokin- und Endotoxin-abhängigen Effekte auf CD 80 und CD 58 nachweisen.

Ähnlich wie IL-1 führte auch eine endotheliale HCMV-Infektion zu einer generalisierten Expressionszunahme der Adhäsionsmoleküle ICAM-1, VCAM-1 und E-Selektin und besaß keinen Einfluß auf MHC-Moleküle und die kostimulatorischen Oberflächenmoleküle CD 40,

CD 80 und CD 58. In partiell Virus-infizierten Zellkulturen beschränkte sich die HCMV-abhängige Hochregulation von ICAM-1 nicht nur auf Virus-infizierte Zellen, sondern war auch in nichtinfizierten „bystander“ Zellen nachweisbar. Dieser Effekt basierte auf einer parakrinen Wirkung eines aus HCMV-infizierten Zellen sezernierten Faktors, welcher als IL-1 β identifiziert werden konnte. Trotz suffizienter Hemmung der viralen DNA-Replikation und der L Protein Synthese ließ sich die HCMV-vermittelte Expressionszunahme endothelialer Adhäsionsmoleküle durch Ganciclovir nicht hemmen.

Bei der Charakterisierung ASS-abhängiger Effekte auf die hier beschriebene Zytokin-, Endotoxin- und HCMV-induzierte Expression endothelialer Oberflächenmoleküle, konnte eine selektive Hemmung der TNF- α -induzierten ICAM-1 und E-Selektin Expression und eine vollständige Suppression IL-4-induzierbarer Adhäsionsmoleküle nachgewiesen werden. ASS-abhängige Effekte auf die IL-1-, LPS-, IFN- γ - und HCMV-induzierte Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle wurden hingegen nicht beobachtet.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß sowohl Zytokine, bakterielles Endotoxin als auch eine vaskuläre HCMV-Infektion über eine differentielle Regulation endothelialer Oberflächenmoleküle eine proinflammatorische Aktivierung vaskulärer Endothelzellen induzieren können. Die Tatsache, daß ASS nicht nur die TNF- α -induzierte Expression von ICAM-1 und E-Selektin inhibieren konnte, sondern auch zu einer vollständigen Hemmung IL-4-induzierbarer Adhäsionsmoleküle führte, deutet darauf hin, daß ASS nicht wie bisher angenommen lediglich TNF- α -abhängige Signaltransduktionsmechanismen beeinflusst, sondern auch eine regulatorische Wirkung auf die Expression anderer Zytokin-abhängiger Gene besitzt. In diesem Zusammenhang könnten Salicylate entweder den Aktivitätszustand eines intrazellulären Proteins regulieren, welches als Bindeglied zwischen TNF- α - und IL-4-vermittelten Signaltransduktionsmechanismen fungiert, oder unterschiedliche Elemente oder Mechanismen beider Signaltransduktionskaskaden beeinflussen.

In Anbetracht der vielen Gemeinsamkeiten TNF- α - und IL-1-abhängiger Signaltransduktionsmechanismen und der Tatsache, daß NIK ein Bindeglied zwischen beiden Signaltransduktionskaskaden darstellt, ist es möglich, daß die hier beschriebene selektive Hemmung der TNF- α -vermittelten ICAM-1 und E-Selektin Expression durch eine regulatorische Wirkung der Salicylate auf einen proximal von NIK gelegenen Signaltransduktionsmechanismus hervorgerufen wird. Da VCAM-1 auch NF- κ B-unabhängig reguliert werden kann, könnte der ausbleibende Effekt von ASS auf die TNF- α -vermittelte Induktion von VCAM-1 auf einen solchen Mechanismus hinweisen und auf diese Weise den fehlenden Einfluß von ASS auf dieses Oberflächenmolekül erklären.

Vor dem Hintergrund, daß die IL-1- und LPS-induzierte Aktivierung vaskulärer Zellen über analoge Signaltransduktionsmoleküle vermittelt werden, läßt auch die ausbleibende Wirkung von ASS auf die LPS-vermittelte Expressionszunahme endothelialer Adhäsionsmoleküle verständlich werden. Dafür spricht desweiteren, daß die HCMV-induzierte Expressionszunahme von ICAM-1, VCAM-1 und E-Selektin, welche auf einer direkten Aktivierung der zellulären Genpromotoren durch virale IE Proteine und auf einer parakrinen Wirkung durch Sekretion von IL-1 β aus HCMV-infizierten Endothelzellen zu basieren schien, ähnlich wie IL-1 und LPS durch ASS nicht inhibiert werden konnte. Unklar bleibt allerdings der genaue Mechanismus, welcher der hemmenden Wirkung von ASS auf die IL-4-induzierte VCAM-1 Expression zugrunde liegt. Nachdem gezeigt werden konnte, daß die IL-4-vermittelte Induktion dieses Adhäsionsmoleküls nicht auf eine transkriptionelle Aktivierung, sondern vielmehr auf eine Verlängerung der Halbwertszeit ihrer Transkriptionsprodukte durch Stabilisierung der mRNA zurückzuführen ist, wäre ein Einfluß von ASS auf diesen Mechanismus zu diskutieren.

Da das Adhäsions- und Migrationsverhalten spezifischer Leukozytenpopulationen maßgeblich über die Expression endothelialer Oberflächenmoleküle reguliert wird, könnte die hier beschriebene ASS-abhängige Hemmung der Zytokin-induzierten Hochregulation bzw. Neu-

Induktion der Adhäsionsmoleküle ICAM-1, VCAM-1 und E-Selektin zusätzlich zur protektiven Wirkung der Salicylate in der Pathogenese vaskulärer Erkrankungen beitragen. Demgegenüber scheinen zur Prävention HCMV-assoziiierter Vaskulopathien neue therapeutische Ansätze erforderlich zu sein, zumal die HCMV-vermittelte Expressionszunahme endothelialer Oberflächenmoleküle weder durch ASS noch durch Ganciclovir unterdrückt werden konnte. Nachdem die Ergebnisse dieser Arbeit allerdings auf eine lediglich selektive Hemmung TNF- α -und IL-4-abhängiger Signaltransduktionsmechanismen hinweisen, sind weitere Untersuchungen auf der Ebene der intrazellulären Signaltransduktion notwendig, um den genauen Mechanismus dieses Phänomens besser zu verstehen. Dies könnte zur weiteren Aufklärung der Pathophysiologie vaskulärer Erkrankungen beitragen und schließlich als Ansatzpunkt weiterer Therapiekonzepte dienen.