

Ulrike von Reyher
Dr. med.

Die CD95(APO-1/Fas)-vermittelte Apoptose in Kolonkarzinom-Zellen Untersuchungen zum Adhäsionsverhalten und zur Charakterisierung von Resistenzmechanismen

Geboren am 14.04.1969 in Nieder-Weisel
Reifeprüfung im Juni 1990
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1991 bis SS 1998
Physikum im August 1993 an der Justus-Liebig-Universität Gießen
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 27.10.1998

Promotionsfach: Pathologie
Doktorvater: Prof. Dr. Med. P. Möller

Ein frühes Ereignis des anti-APO-1-vermittelten Zelltodes ist die Loslösung von dahärenten Kolonkarzinom-Zellen. In dieser Arbeit ist gezeigt worden, daß dieser Adhäsionsverlust mit einer koordinierten Abnahme von Integrinuntereinheiten assoziiert ist. Dabei erfolgte diese Abnahme über die Abschnürung von Integrin-tragenden Blebs. Durch Adhäsions- und Inhibitionsassays konnte nachgewiesen werden, daß sich biochemisch intakte und funktionelle β 1-Integrine auf den abgeschnürten Blebs apoptotischer Zellen befinden. Die vergleichende Analyse von Depletionskinetiken ausgewählter Oberflächenmolekültypen ergab unterschiedliche, aber auffällige *clusternde* Abnahmeraten. Immunzytologisch stellte sich heraus, daß diese Moleküle unterschiedlich stark auf Blebs und/oder apoptotischen Restkörpern vertreten waren. Die Oberflächenmoleküle mit hohen Abnahmeraten waren immunzytologisch weder auf Blebs oder apoptotischen Restkörpern noch intrazytoplasmatisch nachzuweisen und waren somit offenbar schon frühzeitig über einen alternativen Mechanismus depletiert worden. Es war möglich nachzuweisen, daß das Membranblebbing ein Prozeß ist, welcher zu einer selektiven Reduktion der Oberflächenmoleküle führt. Daneben muß ein weiterer Mechanismus des Oberflächenmolekülverlusts existieren. Damit erweist sich der Apoptoseassoziierte Oberflächenmolekülverlust *via* Blebbing als ein selektiver Mechanismus. Normale Kolonepithelien sind hochgradig sensibel, Kolonkarzinom-Zelllinien hingegen weitgehend resistent gegen anti-APO-1 vermittelte Apoptose. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, daß Kolonkarzinom-Zellen durch Protein-Syntheseinhibition und -Exportinhibition bei niedriger APO-1-Expression zu sensitivieren sind. Untersuchungen der Kinetik ergaben Ergebnisse, die die Schlußfolgerung zu lassen, daß die Resistenz der Kolonkarzinom-Zellen durch Proteine unterschiedlicher Halbwertszeit aufrecht erhalten bleibt, welche von der APO-1-Expression unabhängig ist. Außerdem konnte ein Einfluß der Proteinkinase C (PKC) auf die APO-1-Sensibilität festgestellt werden. Eine Erhöhung der PKC Aktivität verstärkte die Resistenz, welche durch selektive Inhibition der PKC aufzuheben war. Schließlich konnte immunzytochemisch ein weiterer Mechanismus der Resistenz gezeigt werden, der durch verspätetes *Capping* der APO-1 Moleküle unter anti-APO-1-Zugabe eine verzögerte Signaltransduktion bewirkte. Diese Daten deuten auf (KO-?)Existenz verschiedener Resistenzmechanismen gegen anti-APO-1-induzierte Apoptose hin, die in Kolonkarzinomzelllinien aktiviert sind.