

Karin-Johanna Scherer

Dr. med.

Lichtmikroskopische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Epidermis und Haaren Cathepsin L-defizienter Mäuse unter besonderer Berücksichtigung des Haarzyklus und des Haarfollikels

Geboren am 09.04.1973 in Bielefeld

Reifeprüfung am 02.06.1992 in Bielefeld

Studiengang der Fachrichtung Medizin von WS 1992/1993 bis WS 1999/2000 (1
Urlaubssemester)

Physikum am 28.03.1995 an der Universität Saarbrücken (Homburg/Saar)

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg mit dem Wahlfach Dermatologie

Staatsexamen am 24.11.1999 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Dermatologie

Doktormutter: Professor Dr. Ingrun Anton-Lamprecht

Cathepsin L ist eine lysosomale Cysteinprotease, die ubiquitär und konstitutiv exprimiert wird. Ihr wird neben ihrer Funktion im intrazellulären Protein-Katabolismus auch die Beteiligung an spezifischen physiologischen Funktionen zugeschrieben, unter anderem bei Knochenresorptionsvorgängen und bei proteolytischen Prozessierungsvorgängen im Rahmen der Immunantwort. Eine Beteiligung an pathophysiologischen Prozessen, wie z. B. der myofibrillären Nekrose bei Myopathien und bei der Progression maligner Tumoren ist ebenso bekannt.

Mittels homologer Rekombination ("Gene Targeting") stellte unsere kooperierende Arbeitsgruppe Dr. Roth/Professor Peters eine Knock-out-Maus für Cathepsin L her, um bereits existierende Hypothesen über die Funktionen zu überprüfen, und um neue Einsichten in mögliche *in vivo* Funktionen dieser Protease zu gewinnen. Die Cathepsin L-defizienten Mäuse wiesen einen charakteristischen Fellkleidphänotyp mit initial wellenförmigem Haarausfall auf, gefolgt von einem Alopecia areata-artigen konstanten Phänotyp.

Ziel der eigenen Untersuchungen war es nun, Hautproben der Cathepsin L-defizienten Tiere, die an definierten Lokalisationen und zu definierten Zeitpunkten entnommen worden waren, auf licht- und elektronenmikroskopischer Ebene zu untersuchen, um mögliche morphologische Korrelate der Cathepsin L-Defizienz zu definieren. Verglichen wurden die Untersuchungsergebnisse jeweils mit Befunden bei altersgleichen Kontrolltieren. Zusätzlich wurde die Haut von *furless*-Mäusen untersucht, einer Spontanmutante im Cathepsin L-Gen auf Chromosom 13 mit identischem Phänotyp wie dem der Cathepsin L-defizienten Tiere, wobei *furless* und Cathepsin L allelisch sind. Ziel war es, die Morphologie der Haut und der Haarfollikel der Cathepsin L-defizienten Tiere und der *Furless* Tiere zu vergleichen, um die Allelität auch auf dieser Ebene zu stützen.

Die Cathepsin L-defizienten Tiere zeigten in dieser Untersuchung charakteristische Auffälligkeiten wie eine Akanthose der Epidermis mit einer Zunahme der Zellschichten, ein verbreitetes sehr ausgeprägtes Stratum granulosum mit erheblich höherem Gehalt an Keratohyalin und eine deutlich hyperkeratotische, in den basalen Lagen etwas kompaktere Hornschicht, die im Gegensatz zum Kontrolltier auch in den oberen Lagen aus nicht stärker abgeflachten Hornlamellen besteht. Die Anzahl von Zellen, die das nukleäre Keratohyalin (Loricrin) synthetisieren, normalerweise ein zeitlich kurz begrenztes Stadium der terminalen epidermalen Keratinisierung, ist gegenüber dem Kontrolltier deutlich erhöht. In den Hornlamellen der Cathepsin L-defizienten Mäuse ist ein deutliches Keratinmuster vorhanden, welches in den höheren Lagen der Hornlamellen aufgelockert wird und dann nicht mehr nachweisbar ist. In den unteren Hornzellschichten erkennt man die Keratinfibrillen als kontrastarme Quer- und Längsschnitte eingebettet in dunkle kontrastreiche Matrixsubstanzen, die von Keratohyalinbausteinen und degradierten Zytoplasmabestandteilen gebildet werden. Bei den Cathepsin L-defizienten Mäusen ist außerdem die Dermis stark verdickt und die Haarfollikel weisen eine extrem ausgeprägte Akanthose des Follikelepithels auf. Die Follikel reichen wesentlich tiefer in das Gewebe und bis ins subcutane Fettgewebe hinab. Der Follikelkanal ist bei den Cathepsin L-defizienten Tieren deutlich erweitert und das Follikelepithel hyperplastisch, insbesondere die germinative Zellpopulation in der Nähe der dermalen Papille und die äußere Wurzelscheide.

Die innere Wurzelscheide zeigt strukturelle Auffälligkeiten, die die Ausbildung eines normalen Haarkanals unmöglich machen: Differenzierung und Abschuppung der Zellen der inneren Wurzelscheide sind gestört. Der stark erweiterte Haarkanal ist mit Zelltrümmern und Produkten der Talgdrüse "verstopft". Es hat sich gezeigt, daß die Follikelentwicklung der Knock-out Mäuse im Vergleich zum Wildtyp verlangsamt ist, Anagen- und Katagenphase

verlängert sind und nach einer verkürzten Telogenphase, aufgrund eines fehlentwickelten Kolbenhaares, das eine normale Verankerung im Haarkanal nicht zulässt, ein verfrühtes Anagen folgt. Diese Verschiebung der einzelnen Phasen des Haarzyklus geht auch aus der tabellarischen Gegenüberstellung der Follikelbefunde bei den Kontrollen, der Cathepsin L-defizienten knockout-Maus und der Furless-Mutante hervor.

Cathepsin L ist die erste lysosomale Cysteinprotease, die die Homöostase von Epidermis und Haarfollikel beeinflusst. Im einzelnen könnte dieses Enzym das Gleichgewicht zwischen Differenzierung und Proliferation epidermaler Zellen kontrollieren, denn bei Cathepsin L-Defizienz ist die Hyperproliferation ein markantes Merkmal. So zum Beispiel könnte Cathepsin L den "Turnover" extrazellulärer Matrixsubstanz beeinflussen, indem es Metalloproteinasen aktiviert, die für den Um- oder Abbau dieser zuständig sind. Diese könnten ihrerseits dann die Proliferation von Epithelzellen der Epidermis und des Haarfollikels beeinflussen. Es ist aber auch ein direkter Einfluß von Cathepsin L auf auto- oder parakrine Mechanismen vorstellbar. Als Protease könnte es für die Prozessierung von parakrinen Wachstumsfaktoren oder deren zugehörigen Rezeptoren zuständig sein und auch auf diesem Wege die Proliferation von Epithelzellen regulieren. Letztendlich ist zu evaluieren, welche Konsequenz definierte *in vivo*-Funktionen von Cathepsin L im Mausmodell für Dermatosen und Haarerkrankungen beim Menschen haben könnten.