

Ulrike Walden
Dr. med.

Untersuchungen zur Interaktion von Wachstumshormon mit kultivierten humanen Hautfibroblasten und Regulation der Insulin-like Growth Factor-Bindungsprotein-3 Synthese

Geboren am 08.01.1968 in Frankfurt / Main
Reifeprüfung am 21.05.1987 in Kronberg
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1988 bis SS 1995
Physikum am 12.04.1990 an der Universität Gießen
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Republik Südafrika / Heidelberg / USA
Staatsexamen am 15.05.1995 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Kinderheilkunde
Doktorvater: Prof. Dr. med. U. Heinrich

In der vorliegenden Arbeit wurden die Interaktion und Regulation von Wachstumshormon (WH), dem Wachstumsfaktor IGF-I und dessen Bindungsprotein IGFBP-3 am Modell von Primärkulturen humaner Hautfibroblasten (HFB) untersucht.

Zunächst wurde mittels [¹²⁵J]WH untersucht, ob WH an kultivierte HFB binden kann. Verschiedene Versuche mit unterschiedlichen Zellzahlen, Inkubationszeiten, WH- und [¹²⁵J]WH-Konzentrationen wurden hierzu durchgeführt. Eine spezifische WH-Bindung an HFB konnte in keinem der Versuche nachgewiesen werden. Es wird daher angenommen, daß HFB keinen spezifischen, biologisch aktiven WH-Rezeptor besitzen und andere Regulationsmechanismen für die Zellproliferation entscheidend sind.

Anschließend wurde geprüft, ob im Überstand der Fibroblastenkulturen IGF-I mittels eines RIA's gemessen werden kann. Es fand sich eine zeitabhängige IGF-I-Sekretion mit einem Konzentrationsmaximum nach 36-stündiger Inkubation. Die Ergebnisse waren für die basale und die WH-stimulierte IGF-I-Sekretion identisch. Damit wurde die vorherige Annahme unterstützt, daß HFB keinen WH-Rezeptor besitzen und WH die IGF-I-Sekretion daher nicht zu steigern vermag.

Des weiteren wurden die Sekretion und Synthese des Bindungsproteins IGFBP-3 an HFB mittels RIA untersucht. Es konnte wiederum eine zeitabhängige basale, nicht jedoch WH-stimulierte IGFBP-3 Sekretion nachgewiesen werden. Dabei bestätigten sich die bisherigen Ergebnisse, daß WH nicht an HFB bindet, so daß weder die IGF-I-, noch die IGFBP-3-Sekretion reguliert werden können.

Es schloß sich die Frage nach anderen Regulationsmechanismen an. Für IGF-I sind Rezeptoren an HFB bekannt. Es wurde daher untersucht, ob eine Regulation von IGFBP-3 in vitro möglich ist. IGF-I bindet an den zellständigen Teil des IGFBP-3 und spaltet diesen nach der Bindung von der Zelle ab. Als Komplex zirkuliert es im Serum. Über diesen Mechanismus wurde ein IGFBP-3-Konzentrationsanstieg im Kulturüberstand vermutet. Wider Erwarten konnte eine Modulation der IGFBP-3-Konzentration für die untersuchten Zellkulturen nicht nachgewiesen werden. Die nach IGF-I-Inkubation gemessenen IGFBP-3-Konzentrationen waren in etwa identisch mit denen der Basalsekretion.

Ein signifikanter Anstieg der IGFBP-3-Konzentrationen war hingegen nach Inkubation des basischen Fibroblasten-Wachstumsfaktors bFGF und des fetalen Kälberserums nachweisbar. Diese beiden Substanzen scheinen an der IGFBP-3-Regulation direkt oder indirekt beteiligt zu sein. Der Mechanismus, der diese Regulation bewirkte, konnte in diesen Versuchen nicht

geklärt werden. Nach Inkubation mit dem Translationshemmer Cycloheximid zeigte sich eine signifikante Abnahme der IGFBP-3-Konzentrationen. Die gemessenen IGFBP-3-Konzentrationen sind also auf Neusynthese zurückzuführen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit legen den Schluß nahe, daß WH keine direkte, lokale Wirkung auf HFB entfaltet. Die untersuchten Zellen scheinen keinen spezifischen WH-Rezeptor zu haben, so daß die IGF-I-Synthese vermutlich über andere Faktoren reguliert wird. Für IGFBP-3 konnte eine regulierende Wirkung durch bFGF und fetales Kälberserum nachgewiesen werden. Für FGF war eine mitogene Wirkung bereits bekannt. Welche Faktoren im fetalen Kälberserum die Regulation der IGFBP-3-Sekretion beeinflussen, bleibt unklar.

Für die IGF-Bindungsproteine sind mittlerweile eine Reihe verschiedener Untereinheiten bekannt, deren Funktionen noch nicht sämtlich erforscht sind. Inwieweit die einzelnen Untereinheiten an der Wachstumsregulation beteiligt sind und welche Formen durch WH oder IGF-I reguliert werden, bedarf weiterer Untersuchungen. Anhand dieser Versuche konnte nur gezeigt werden, daß nach IGF-I-Inkubation keine Steigerung der IGFBP-3-Konzentrationen zu erreichen ist.