

Christian Henri Opherk  
Dr.med

## **Analyse der funktionellen Relevanz des hepatischen Glukokortikoid-Rezeptors anhand einer gewebsspezifischen Gen-Inaktivierung in der Maus.**

Geboren am 27.01.1974 in Düsseldorf  
Reifeprüfung am 21.06.1993  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1994/1995 bis SS 2000/2001  
Physikum am 12.9.1996  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Heidelberg, Houston und New York  
Staatsexamen am 13.6.2001

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Wolfgang Stremmel

Glukokortikoide sind an der Regulation metabolischer, immunologischer und entwicklungsbiologischer Prozesse entscheidend beteiligt. Ihre Funktion wird hauptsächlich durch den Glukokortikoidrezeptor (GR), einen liganden-aktivierten Transkriptionsfaktor aus der Familie der Kernrezeptoren, vermittelt. Ubiquitäre Inaktivierung des GR in der Maus führt zu perinataler Letalität aufgrund eines Lungenreifungsdefektes und limitiert dadurch eine Analyse der Mutation im adulten Tier.

Daher sollte in der vorliegenden Dissertation die Inaktivierung des GR mit Hilfe des Cre-LoxP-Rekombinationssystems auf Hepatozyten beschränkt werden. Dieser Ansatz versprach ferner die Möglichkeit zur Differenzierung der relativen funktionellen Bedeutung hepatischer und peripherer Wirkungen der Glukokortikoide in komplexen metabolischen Prozessen im sonst intakten Gesamtorganismus.

Es wurde eine transgene Maus erzeugt, welche die Cre-Rekombinase unter der Kontrolle des endogenen Albumin-Promotors und -Enhancers bzw. der Alpha-Fetoprotein-Enhancer exprimiert. Es konnte gezeigt werden, daß dieses Transgen in allen analysierten transgenen Linien eine strikt Hepatozyten-spezifische Expression der Cre-Rekombinase sicherstellte. Diese transgene Mauslinie wird ein wertvolles genetisches Werkzeug zur Hepatozyten-spezifischen Inaktivierung jedes durch LoxP-Sequenzen modifizierten Gens darstellen.

In Verbindung mit einem durch zwei LoxP-Sequenzen modifizierten GR-Gen konnte der GR durch diese Mauslinie spezifisch in Hepatozyten inaktiviert werden. (GR<sup>Alb-Cre</sup>-Maus). Im Gegensatz zu den vollständig GR-defizienten Mäusen zeigen die GR<sup>Alb-Cre</sup>-Mäuse normale Überlebensraten.

Die Hepatozyten-spezifische Inaktivierung des GR beeinflußt das Wachstum der Mäuse. Die Tiere erreichen nur 70% des Körpergewichts der Kontrolltiere. Während Body-Mass-Index, Wachstumshormon- und Kortikosteron-Konzentrationen im Plasma unverändert sind, zeigen die GR<sup>Alb-Cre</sup>-Mäuse eine 90%ige Reduktion von IGF-1-mRNA in der Leber mit begleitender

signifikanter Reduktion des IGF-1-Peptids im Plasma. Die Ergebnisse lassen auf eine essentielle Rolle hepatischer Glukokortikoide auf das Wachstum schließen.

Der Glukosestoffwechsel wird durch die Hepatozyten-spezifische Inaktivierung des GR beeinträchtigt. Während die GR<sup>Alb-Cre</sup>-Mäuse unter Basalbedingungen normoglykämisch sind, zeigen sie im Hungerversuch eine Hypoglykämie aufgrund einer verminderten Induktion der glukoneogenetischen Enzyme Phosphoenolpyruvatcarboxykinase (PEPCK), Glukose-6-Phosphatase (G-6-P) und Tyrosinaminotransferase (TAT) bei unbeeinträchtigtem Glykogenstoffwechsel. Dieser Defekt kann nicht durch residuale Aktivität des GR bedingt sein, da Verabreichung des Glukokortikoid-Agonisten Dexamethason in hohen Dosen in den Mutanten keinerlei Induktion dieser Enzyme bewirkt. Die hepatischen Wirkungen von Glukokortikoiden sind also für die Aufrechterhaltung des Blut-Glukosespiegels während eines Hungerzustandes essentiell.

Um die funktionelle Bedeutung hepatischer Glukokortikoide in der Pathogenese der Hyperglykämie bei Diabetes mellitus zu untersuchen, wurden zwei unterschiedliche Modelle verfolgt. Durch selektive Zerstörung der pankreatischen Beta-Zellen mit Streptozotocin konnte ein zum Diabetes Typ I komplementärer Zustand erzeugt werden. Vorläufige Ergebnisse zeigen, daß die Hepatozyten-spezifische Inaktivierung des GR eine hochgradige Verminderung der Plasma-Glukose bei Insulinmangel zur Folge hat, vermutlich wegen einer verminderten Induktion der PEPCK. In Analogie zum Diabetes Typ II wurde in den Mäusen eine Adipositas durch Zufuhr einer hochkalorischen Diät erzeugt, die allein in den Kontrolltieren eine Hyperglykämie hervorrief. Die Ergebnisse unterstreichen die zentrale Rolle der durch Glukokortikoide regulierten hepatischen Glukoseproduktion in der Pathogenese der Hyperglykämie bei Diabetes mellitus.

Im Entzündungsmodell durch Injektion von Lipopolysacchariden konnte gezeigt werden, daß die Induktion von Akut-Phase-Proteinen in der Leber überraschenderweise weitgehend GR-unabhängig ist.

Zusammenfassend stellt die Albumin-Cre transgene Linie ein wertvolles genetisches Werkzeug zur Hepatozyten-spezifischen Inaktivierung von Genen dar. Die hepatische Funktion des GR ist für das Überleben, die normale hepatische Architektur, die Akut-Phase-Antwort und den Glukosestoffwechsel im unbehandelten Tier nicht essentiell. Eine zentrale Bedeutung besitzt der GR dagegen im Hinblick auf regelrechtes Wachstum, den Glukosestoffwechsel im Hungerzustand und die Pathogenese der Hyperglykämie bei Diabetes mellitus.