

Dr. rer. nat. Ildikó Zalán

Dr. med.

## **Untersuchungen der Expression des 5-Lipoxygenase-Enzymstoffwechselweges in humanen Karzinom- und Sarkomzelllinien**

Geboren am 06.06.1965 in Darmstadt

Reifeprüfung am 19.06.1984 in Darmstadt

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1989 bis SS 1996

Physikum am 15.3.1991 an der Universität in Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr im Lehrkrankenhaus Salem in Heidelberg

Staatsexamen am 23.04.1996 an der Universität in Heidelberg

Promotionsfach : Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. A.J.R. Habenicht

5-Lipoxygenase (5-LO) ist das Schlüsselenzym der Leukotriensynthese. Leukotriene sind als Mediatoren in die Pathogenese entzündlicher und allergischer Reaktionen involviert. Über eine weiterreichende Rolle der 5-LO wird in der Literatur kontrovers diskutiert.

Bisher wurde die Expression des 5-LO Gens lediglich in hämatopoetischen Zellen eindeutig nachgewiesen.

In der vorliegenden Arbeit wurden 28 Karzinomzelllinien unterschiedlicher Primärtumoren und 3 Sarkomzelllinien mit Hilfe der RT-PCR-Technologie auf 5-LO Transkripte untersucht. In einigen Karzinomzellen wurden Immunoblotanalysen zum Nachweis von 5-LO-Protein durchgeführt. Mittels semiquantitativer RT-PCR wurden die Karzinomzellen in Hinblick auf die Höhe der 5-LO mRNA-Expression verglichen. In Zelllinien, in denen primär keine oder lediglich eine geringe 5-LO mRNA-Expression nachweisbar war, wurde durch Inkubation mit TGF $\beta$ /VD3 eine Induktion des Enzyms provoziert.

Weitere Metabolisierungswege sollten durch Nachweis von LTA4-Hydrolase und LTC4-Synthase mRNA analysiert werden. Eine möglicherweise mit der 5-LO-Expression konkordante FLAP-Expression wurde ebenfalls auf mRNA-Ebene untersucht.

Entgegen der Auffassung einer ausschließlichen 5-LO-Expression in hämatopoetischen Zellen, wurden in der vorliegenden Arbeit in mehr als 2/3 der untersuchten Karzinomzelllinien und in 2 der 3 analysierten Sarkomzelllinien 5-LO mRNA mit Hilfe der RT-PCR-Technologie nachgewiesen. Die Expression war nicht organspezifisch, jedoch wurde in den untersuchten Pankreaskarzinomzelllinien der höchste 5-LO-Gehalt - sowohl auf der Ebene der mRNA als auch auf Proteinebene - gefunden. Erstmals wurde in dieser Arbeit 5-LO in mesenchymalen Geweben (Sarkomen) beobachtet. In 1/3 der Zelllinien, die primär keine 5-LO mRNA exprimierten, konnte in Abhängigkeit einer TGF $\beta$ /VD3-Inkubation eine Induktion des Enzyms erzielt werden.

In nahezu 90% der Zelllinien wurde eine von der 5-LO-Expression unabhängige FLAP-Expression beobachtet. Das Vorhandensein dieses Arachidonsäure-bindenden Proteins scheint somit nicht notwendigerweise eine gleichzeitige 5-LO-Expression zur Folge zu haben.

LTA4-Hydrolase wurde in allen untersuchten Zelllinien in vergleichbarer Menge nachgewiesen, was für eine nicht regulierte Expression dieses Enzyms - ähnlich eines nicht regulierten Haushaltsgens - spricht.

LTC4-Synthase exprimierten dagegen weniger als 20% der untersuchten Zelllinien. Das Vorhandensein aller 4 Gene des 5-LO-Enzymclusters wurde in 4 Karzinomzellen und einer Sarkomzelllinie gefunden, wobei 2 Glioblastomzelllinien das ausgeprägteste Expressionsmuster zeigten.

Die erarbeiteten Ergebnisse werfen die wichtige Frage nach einer weitergehenden Funktion der 5-LO außerhalb des hämatopoetischen Systems auf. Ist 5-LO- Expression mit der malignen Transformation assoziiert oder ist sie Bestandteil der normalen Differenzierung epithelialer - möglicherweise auch mesenchymaler - Gewebe?

Die vorliegende Arbeit kann diese Frage nicht klären, bietet aber die Grundlage für weiterführende Untersuchungen.