



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Zur Rolle des Toll-like Rezeptors 4 und des Signalweges von
nukleärem Faktor κ B bei der Hemmung der
Keratinocytenproliferation durch Lipopolysaccharid**

Autor: Gwendolin Marie Manegold
Institut / Klinik: Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg (DKFZ)
Doktormutter: Priv.-Doz. Dr. K. Müller-Decker

Toll-like Rezeptoren (TLRs) gehören zu den phylogenetisch konservierten Rezeptoren, die „Pathogen-assoziierte molekulare Muster“ erkennen. Sie spielen damit eine zentrale Rolle bei der Initiation der unspezifischen Immunabwehr und sind wichtige Bindeglieder zur spezifischen Immunantwort. Die TLR4-Isoform gilt als Lipopolysaccharid (LPS)-Rezeptor.

LPS, ein Hauptbestandteil gram-negativer Bakterienzellwände, kann als Endotoxin den septischen Schock hervorrufen. Weniger bekannt ist die LPS-induzierte Hemmung der Proliferation von epidermalen Keratinocyten in Maushaut *in vivo* und *in vitro*.

In der vorliegenden Arbeit ging es darum, zu klären, ob Keratinocyten TLR4 exprimieren. Außerdem sollte untersucht werden, ob die LPS-induzierte Proliferationshemmung ähnlich wie andere Endotoxineffekte durch NF- κ B vermittelt wird. Als Modellzelllinie wurden LPS-sensitive RTE2-Keratinocyten, die aus Rattenzunge stammen, genutzt.

Subkonfluente RTE2-Keratinocyten wurden in ihrer Vitalität gemäß dem MTT-Test durch LPS nach 48 h um 25 % und nach 72 h um 40 % gegenüber den Kontrollkulturen in ihrer Proliferation gehemmt. Lipoteichonsäure (LTA), ein Bestandteil gram-positiver Bakterienzellwände, war hingegen selbst in sehr hohen Konzentrationen unwirksam.

In Gesamt-RNA Präparationen aus RTE2-Zellen sowie aus Epidermis und Zunge von Ratte und Maus gelang es mittels RT-PCR und Northern-Blot Analyse die TLR4-mRNA nachzuweisen.

Die Immunblotanalyse mit einem polyklonalen, TLR4-spezifischen Antikörper ergab, dass auch das TLR4-Protein in RTE2-Keratinocyten exprimiert wird. Eine LPS-Behandlung der Zellen hatte keinen Einfluß auf die Menge des exprimierten TLR4-Proteins.

LPS induzierte in RTE2-Zellen eine Translokation von NF- κ B vom Zytoplasma in den Zellkern, also eine NF- κ B Aktivierung innerhalb von 45 Minuten. Ferner führte die LPS-Behandlung zu einer verstärkten Expression von iNOS-Protein. Immunblotanalysen ergaben, dass die iNOS-Menge nach 2 h Einwirkungszeit deutlich und nach 4-8 h maximal erhöht war.

Die durch LPS-verursachte iNOS-Expression und die Proliferationshemmung wurden durch Behandlung mit einem NF- κ B-Inhibitorpeptid partiell aufgehoben. Daraus kann geschlossen werden, dass die beiden Reaktionen durch NF- κ B vermittelt waren.

Eine LPS-induzierte NF- κ B Aktivierung und eine damit einhergehende Proliferationshemmung könnten *in vivo* zur terminalen Differenzierung führen und damit zu einer gestärkten epidermalen Barriere beitragen und vor zusätzlich eindringenden Keimen schützen.

Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass Keratinocyten funktionell aktiven TLR4 exprimieren, der sie bei Bedarf in die Lage versetzen dürfte gram-negative Bakterien unspezifisch abzuwehren.