

Alexandra Eva Höh

Dr. med.

Untersuchungen der suppressiven Effekte und Mechanismen der Inhibition des Proteasom-Systems in humanen dendritischen Zellen unter Verwendung der Inhibitoren Bortezomib, Epoxomicin, Curcumin, Gliotoxin und Epigallocatechin-3-gallat

Geboren am 07.02.1981 in Kusel

Staatsexamen am 19.06.2006 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Immunologie

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Dr. h. c. Volker Daniel

DC sind professionelle antigenpräsentierende Zellen, die für die Initiierung und Modulation der primären Immunantwort, u.a. durch Aktivierung von naiven T-Zellen, von entscheidender Bedeutung sind und somit eine zentrale Stellung im Immunsystem einnehmen. In dieser Arbeit wurden die Effekte und Mechanismen der Inhibition des 26S Proteasoms in verschiedenen Reifungsstadien von humanen, aus CD14⁺ Monozyten generierten, DC untersucht. Das 26S Proteasom spielt eine Schlüsselrolle bei der Regulation zellulärer Prozesse, indem es nukleäre und zytosolische Proteine, die für Immunantwort, Differenzierung, Proliferation, Zellzyklusregulation, Gentranskription und Apoptose entscheidend sind, modifiziert und prozessiert. In dieser Arbeit wurde erstmals das Profil der Inhibition proteasomaler Peptidaseaktivitäten bei Verwendung der synthetischen und biologischen Verbindungen Bortezomib, EPM, Curcumin, EGCG und GT in humanen DC charakterisiert. Die selektiven Proteasominhibitoren Bortezomib und EPM wurden dabei in Hinblick auf die Modulation von funktionell wichtigen und essentiellen Mechanismen in humanen DC mit den biologischen Substanzen Curcumin, GT und EGCG verglichen. Dabei wurde für Bortezomib und EPM eine selektive Inhibition der chymotryptischen Peptidaseaktivität, für GT eine Inhibition der PGPH- und der chymotryptischen Peptidaseaktivität und für EGCG eine Inhibition der tryptischen, chymotryptischen und PGPH-Peptidaseaktivität des Proteasoms gezeigt. Für Curcumin konnte nur eine marginale Inhibition des Proteasoms nachgewiesen werden. Es konnte gezeigt werden, dass alle

Inhibitoren, trotz der unterschiedlichen inhibitorischen Profile, Apoptose, eine Inhibition der Expression funktioneller Zelloberflächenmoleküle und eine Inhibition der Sekretion von IL-12p70 und IL-12p40 in DC induzieren. Anhand der verminderten Expression des Reifungsmarkers CD83 konnte für alle Inhibitoren, außer EGCG, eine Inhibition der Reifung von DC nachgewiesen werden. Für Bortezomib und Curcumin wurde außerdem eine Inhibition der Rezeptor-vermittelten Endozytose und der Makropinozytose gezeigt. Beide Inhibitoren supprimieren die Stimulation allogener CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen. Als ein zellulärer Mechanismus, der an der Suppression von DC beteiligt sein könnte, wurde für Bortezomib die Inhibition der nukleären Translokation und Akkumulation der Transkriptionsfaktoren des NF-κB/Rel-Systems, RelA (p65) und RelB, demonstriert.

In dieser Arbeit konnte eine entscheidende Rolle des 26S Proteasoms für die Viabilität und für essentielle Funktionen humaner DC gezeigt werden. Dieses konnte anhand der Inhibition des Proteasoms durch Bortezomib, EPM, EGCG und GT demonstriert werden. Vergleichbare Effekte zeigte jedoch auch Curcumin, das in humanen DC nur eine marginale Inhibition des 26S Proteasoms bewirkt. Die Suppression essentieller Funktionen von humanen DC durch Bortezomib, EPM, Curcumin, EGCG und GT, die in dieser Arbeit erstmals gezeigt wurde, stellt einen neuen Ansatz zur Immunsuppression dar. Die hier gezeigten Ergebnisse rechtfertigen daher weitere Studien zum klinischen Einsatz dieser Inhibitoren zur Immunmodulation bei Transplantationen und Autoimmunerkrankungen.