

Christoph Schön  
Dr. med.

## **S100A1: Ein neues kardiales Damage-Associated Molecular Pattern**

Fach/Einrichtung: Innere Medizin  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Patrick Most

Bei Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs) handelt es sich um eine heterogene Gruppe intrazellulärer Moleküle, welche nach Freisetzung aus geschädigten Zellen an Pattern Recognition Receptors (PRRs) binden und so als endogene Gefahrensignale eine inflammatorische Reaktion auslösen. Beim akuten Myokardinfarkt wird neben Proteinen wie Troponin T auch S100A1, ein Mitglied der S100-Proteinfamilie, aus geschädigten Kardiomyozyten ins Interstitium freigesetzt. Es folgt eine akute Entzündungsreaktion, bei der kardialen Fibroblasten in ihrer Funktion als Zytokin- und Matrix-synthetisierenden Zellen besondere Bedeutung zukommt. Diese Phase wird maßgeblich durch DAMPs beeinflusst und ist entscheidend für den adäquaten Ablauf der Infarktheilung, ohne den es zur Ausbildung einer chronischen Herzinsuffizienz kommt. In der vorliegenden Promotionsarbeit wurde daher der Frage nachgegangen, ob extrazellulärem S100A1 beim akutem Myokardinfarkt die Rolle eines kardialen DAMP zukommt. Zu diesem Zweck wurden die Infarkt-assoziierte Freisetzung von S100A1 und dessen Effekte auf kardiale Fibroblasten untersucht.

Die Messung der S100A1-Konzentration im Serum von Patienten mit ST-Hebungsinfarkt mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay zeigte, dass S100A1 beim akuten Myokardinfarkt in signifikant erhöhter Konzentration im peripheren Blut nachweisbar ist. Immunfluoreszenzmikroskopische Analysen von infarziertem Herzmuskelgewebe der Maus ergaben, dass Infarkt-assoziiert freigesetztes S100A1 von kardialen Fibroblasten internalisiert wird. Im Zellkulturmodell konnte mittels Fluoreszenzmikroskopie und Western Blot die Internalisierung von rekombinantem S100A1 in aus Rattenherzen isolierte kardiale Fibroblasten beobachtet werden. In Western Blot Analysen war unter Stimulation mit S100A1 eine Aktivierung der Extracellular Signal-Regulated Kinase 1 und 2 (ERK1/2) sowie der Transkriptionsfaktorfamilie Nuclear Factor of Kappa Light Polypeptide Gene Enhancer in B-Cells (NFκB) nachweisbar. Durch Experimente mit murinen Ohr-Fibroblasten aus Toll-like Rezeptor 4 (TLR4)- und Myeloid Differentiation Primary Response Gene 88 (MyD88)-Knock Out-Mäusen konnte die S100A1-vermittelte Aktivierung dieser Signalwege als TLR4- und MyD88-abhängig charakterisiert werden. Zudem stellte sich fluoreszenzmikroskopisch die Aufnahme von S100A1 in das endolysosomale Kompartiment als TLR4-abhängig dar. Eine Präinkubation mit Chloroquine, einem chemischen Inhibitor der endosomalen Azidifizierung, resultierte in einer Hemmung der S100A1-vermittelten ERK1/2-Aktivierung. Durch die Anwendung eines Proximity Ligation Assay konnte außerdem eine direkte Interaktion von S100A1 mit TLR4 in kardialen Fibroblasten nachgewiesen werden. Eine Beteiligung des Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE) an Internalisierung und Signaltransduktion von S100A1 konnte durch die Verwendung von Ohr-Fibroblasten aus RAGE-Knock Out-Mäusen ausgeschlossen werden. In der Analyse der Genexpression kardialer Fibroblasten mittels reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion und Western Blot zeigte sich unter dem Einfluss von S100A1 auf mRNA- und Proteinebene eine signifikante Expressionsmodulation inflammatorischer Faktoren. Durch den kombinierten Einsatz von Knock Out-Fibroblasten und chemischen Inhibitoren konnte zudem eine Abhängigkeit der S100A1-vermittelten Genexpressionsregulation von der TLR4-MyD88-induzierten ERK1/2- und NFκB-Aktivierung gezeigt werden.

Aus der vorliegenden Arbeit geht hervor, dass extrazelluläres S100A1 über Interaktion mit dem Pattern Recognition Receptor TLR4 und eine spezifische Signaltransduktionskaskade zur

Ausbildung eines immunmodulatorischen und antifibrotischen Phänotyps kardialer Fibroblasten führt. Bei akutem Myokardinfarkt zeigt S100A1 somit die Eigenschaften eines Damage-Associated Molecular Pattern und stellt eine potentielle Zielstruktur für zukünftige Therapieansätze zur Prävention einer Herzinsuffizienz dar.