

Young Sun Lee

Dr. sc. hum.

Hemmung der Zelladhäsion durch Inhibition der Zytoskelettverankerung von Adhäsionsmolekülen mittels Gentransfer

Geboren am 16. 02. 1968 in Masan, Kyung Nam, Süd-Korea

Reifeprüfung am 20. 11. 1985 in Masan, Kyung Nam, Süd-Korea

Vordiplom am 18. 02. 1991 an der Universität Frankfurt

Diplom am 03. 11. 1994 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. C. Bode

Die prinzipielle Möglichkeit zur Inhibition der Zelladhäsion durch Störung der Zytoskelettverankerung von Adhäsionsmolekülen wurde untersucht. Zur Aufklärung der Mechanismen bei der Inhibition von Integrin-vermittelten Zelladhäsion wurden verschiedene transmembranäre Fusionsproteine, die intrazellulär über ihren zytoplasmatischen Anteil von β_3 im Zytoskelett verankert werden, extra- und transmembranär den extrazellulären Marker, CD7 kodieren, konstruiert. Die DNA für das konzipierte Fusionsprotein wurde mittels PCR hergestellt und durch Adenovirus-assoziierte Lipofektion in eine CHO Zelllinie, eine GPIIb/IIIa exprimierende CHO Zelllinie und in AA8 Zellen mit tetrazyklinreguliertem Expressionstransfektionssystem transfiziert. Die Konstruktion verschiedener Fusionsproteine ermöglichte Untersuchungen zur Rolle der zellulären Lokalisation der Fusionsproteine bei der Inhibition der Zelladhäsion.

Es genügte eine Membranexpression des CD7(Δ 215) β_3 Fusionskonstruktes, die deutlich geringer war als die Membranexpression des rekombinanten GPIIb/IIIa um die negativ dominante Hemmung der Zelladhäsion zu erreichen. Trotz der relativ zu GPIIb/IIIa geringen Expressionsrate konnten nur wenige GPIIb/IIIa bedingte Adhäsionsplaques und kaum Stress Fasern nachgewiesen werden. Durch den Einsatz des hocheffizienten tetrazyklinregulierten Genexpressionssystems konnten zwei unterschiedliche Mechanismen der Inhibition von verschiedenen CD7/ β_3 -Konstrukten gezeigt werden; kompetitiv und dominant negativ. Eine fast maximale Inhibition der Zelladhäsion durch das CD7(Δ 215) β_3 Konstrukt bei geringer Expression stellte einen negativ dominanten Effekt dar, d. h. wenige CD7(Δ 215) β_3 Fusionsproteine können die Funktion vieler GPIIb/IIIa Molekül unterdrück-

ken. Andere CD7/ β_3 - Fusionskonstrukte zeigten mit zunehmender Expression eine allmähliche Zunahme der Inhibition. Sie besitzen also einen kompetitiv inhibierenden Effekt. Somit läßt sich abschließend sagen, daß die Integrin-vermittelte Zelladhäsion durch die Störung der Zytosklettverankerung von Adhäsionsmolekülen zu hemmen ist und hierbei zwei unterschiedlichen Mechanismen, kompetitiv inhibierenden und dominant negativen, zugrunde liegen.