

Martin Michael Salfenmoser  
Dr. med.

## **Deficiency of Prolyl Hydroxylase Containing Enzyme 1 Mitigates Colitis via Increased Goblet Cell Activity**

Fach/Einrichtung: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Martin A. Schneider, MBA

**Hintergrund und Zielsetzung:** In Deutschland leiden rund 300.000 Menschen an einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung (CED). CED ist durch einen Verlust der intestinalen epithelialen Barrierefunktion und einer daraus folgenden Schleimhauthypoxie, sowie durch einen Verlust von Becherzellen des Kolons charakterisiert. Becherzellen sind sekretorische Zellen, die unter anderem die Muzine der schützenden Schleimschicht des Kolonepithels produzieren und hierdurch eine Schlüsselrolle in der Aufrechterhaltung der intestinalen Homöostase einnehmen. Hypoxie-induzierbare Prolylhydroxylasen enthaltende Enzyme (PHDs) sind molekulare Sauerstoffsensoren, die Anpassungsprozesse an veränderte Sauerstoffkonzentrationen im Gewebe während einer Hypoxie regulieren. Bislang sind CED schwer zu behandeln und stellen für betroffene Patienten eine große Belastung dar. Mehrere Studien haben jedoch einen protektiven Effekt einer PHD-Inaktivierung sowie einer medikamentösen PHD-Inhibierung während einer Kolitis gezeigt und das Isoenzym PHD1 als vielversprechendes therapeutisches Ziel bei CED identifiziert.

**Ziel der Dissertation:** Die biologische Bedeutung von PHD1 für Becherzellen des Kolons und ihre Aktivität bei CED ist bislang noch unbekannt. Ziel des Projekts ist es, zu untersuchen, ob die genetische Inaktivierung von PHD1 in Mäusen während einer Kolitis einen spezifischen Einfluss auf das Überleben oder die Aktivität von Becherzellen des Kolons hat. Hierdurch sollen die Mechanismen aufgeklärt werden, die der protektiven Wirkung einer PHD1-Hemmung zugrunde liegen, um die Wirkung von PHD-Inhibitoren im Hinblick auf ihre klinische Anwendung besser zu verstehen.

**Methoden:** PHD1-defiziente (PHD1<sup>-/-</sup>) und Wildtyp (WT)-Mäuse wurden mit Dextransodiumsulfat (DSS) behandelt und der Einfluss auf die entzündungsspezifische Krankheitsaktivität untersucht. Anschließend wurde die Anzahl der Becherzellen des Kolons durch PAS-Färbung analysiert und die Becherzellaktivität durch RT-qPCR und ELISA-Analysen gemessen. *In vitro* wurden becherzellähnliche LS-174T-Zellen mit den proapoptotischen Zytokinen Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- $\alpha$ ) und Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) sowie dem PHD-Inhibitor Dimethyloxalylglycin (DMOG) behandelt. Anschließend wurden die Zellviabilität und die Expression und Sekretion des wichtigsten im Kolon von Becherzellen gebildeten Muzins, MUC2 analysiert.

**Ergebnisse:** Während der Behandlung mit DSS zeigten PHD1<sup>-/-</sup>-Mäuse im Vergleich zu WT-Mäusen eine signifikant verringerte Entzündungsaktivität. Interessanterweise war während der frühen Phase der Kolitis die mRNA-Expression von MUC2 und MUC3 in Becherzellen von PHD1<sup>-/-</sup> Mäusen im Vergleich zu WT-Mäusen signifikant erhöht, was auf eine erhöhte Becherzellaktivität hindeutet. Während die Anzahl der Becherzellen in unbehandelten PHD1<sup>-/-</sup> - und WT-Mäusen vergleichbar waren, zeigte sich ihre Häufigkeit bei PHD1<sup>-/-</sup>-Mäusen während der späten Phase der DSS-induzierte Kolitis signifikant erhöht. *In vitro* erhöhte die Hemmung

von PHDs in LS-174T-Zellen, die mit TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  behandelt wurden, die Zellviabilität und die MUC2-mRNA-Transkription.

**Schlussfolgerung:** Die Ergebnisse deuten auf einen bislang unbekanntem Mechanismus hin, durch den PHD1 die Anzahl und die sekretorische Funktion von Becherzellen des Kolons während einer Kolitis reguliert und eine schützende Wirkung auf die Darmschleimhautbarriere ausübt.