

## **Zusammenfassung**

IL-6 ist ein wichtiger Regulator der Entzündungsreaktion. Sein Wirkungsspektrum umfasst sowohl pro- als auch anti-inflammatorische Eigenschaften. Eine konstitutive oder deregulierte IL-6-induzierte Jak/STAT Signaltransduktion kann chronische Entzündungen und Tumorwachstum auslösen. Unter physiologischen Bedingungen wird die Jak/STAT Signaltransduktion durch verschiedene Repressoren kontrolliert. Zu diesen Repressoren gehören der *feedback* Inhibitor SOCS3 und die Proteintyrosinphosphatase SHP2.

Glukokortikoide haben anti-inflammatorische Eigenschaften und werden in der Therapie entzündlicher Krankheiten eingesetzt. Im ersten Teil dieser Arbeit wurde gezeigt, dass das synthetische Glukokortikoid Dexamethason die IL-6-induzierte Akut-Phase Reaktion in Hepatom Zellen, in primären murinen Hepatozyten und *in vivo* verstärkt, indem es die Expression des *feedback* Inhibitors SOCS3 reduziert. In SOCS3 defizienten Zellen und in Hepatozyten, in denen das SOCS3 Rekrutierungsmotiv in gp130 mutiert ist, wird daher die Akut-Phase Reaktion durch Glukokortikoide nicht erhöht. Die Verminderung der SOCS3 Expression wird weder durch die Reduktion der IL-6-induzierten frühen STAT3 Phosphorylierung, der STAT3 Kerntranslokation, der SOCS3 Promotoraktivierung noch durch eine Reduktion der Halblebenszeit der SOCS3 mRNA oder des SOCS3 Proteins vermittelt. Jedoch ist die transkriptionelle Aktivität des Glukokortikoid Rezeptors essentiell für die beobachtete Verstärkung der Akut-Phase Reaktion. Die hier präsentierten Daten stellen einen neuen globalen Mechanismus der Integration von anti-inflammatorischen Glukokortikoiden und dem im Verlauf einer Entzündung sezernierten IL-6 dar.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde ein identifizierbares, prädiktives mathematisches Modell der frühen IL-6-induzierten Signaltransduktion entwickelt. Hierzu wurde ein iterativer Zyklus aus Modelldefinition, identifizierbarkeitsbasierter Modellmodifikation und Generierung quantitativer Daten durchlaufen. Die Daten umfassen die Quantifizierung der Stöchiometrie und der Dynamik der frühen IL-6-induzierten Signaltransduktion in WT und SHP2 *knockdown* Zellen. Die Modellmodifikation zeigte auf, dass 1) die Assoziation von IL-6 mit gp80, 2) die Dimerisierung von STAT3 und 3) die nichtlineare Phosphorylierung von SHP2 essentiell für die Dynamik der IL-6-induzierten Signaltransduktion sind. Interessanterweise zeigt das Modell, dass SHP2 kein früher *feedback* Inhibitor der frühen IL-6-induzierten Signaltransduktion ist. Zusätzlich zeigen quantitative Experimente eine bisher nicht beschriebene Funktion von SHP2 als basaler Repressor einer spontanen Zytokin-unabhängigen Aktivierung des Rezeptors. SHP2 könnte somit eine essentielle Funktion in der Unterdrückung einer konstitutiven unkontrollierten Aktivierung des Jak/STAT Signalweges einnehmen, die mit vielen inflammatorischen und proliferativen Krankheiten assoziiert wird.

## Summary

IL-6 is a well known mediator of inflammatory signals. Misregulated or constitutive IL-6-induced Jak/STAT signaltransduction contributes to chronic inflammatory diseases and tumorigenesis. Under non-pathological conditions Jak/STAT signaling is tightly regulated by a complex network of inhibitors. Two of these inhibitors are the *feedback* inhibitor SOCS3 and the protein tyrosine phosphatase SHP2.

Glucocorticoids are known as potent regulators of inflammation and have been used pharmacologically to improve inflammatory, immune and lymphoproliferative diseases for more than 50 years. In the first part of this thesis it is demonstrated that the synthetical glucocorticoid dexamethasone enhances the IL-6-induced acute-phase response in hepatoma cells, primary murine hepatocytes, and *in vivo*. This is caused by the downregulation of the SOCS3 protein expression. Consequently, in SOCS3 deficient cells glucocorticoids do not affect the IL-6-induced expression of acute-phase proteins. Moreover, in hepatocytes lacking the SOCS3 recruiting motif within gp130, the synthesis of acute-phase proteins is not enhanced by dexamethasone. The downregulation of SOCS3 expression is neither caused by a reduction of early IL-6-induced STAT3 phosphorylation, STAT3 nuclear translocation or reduced SOCS3 promoter activity nor by a destabilization of SOCS3 mRNA or protein. However, the transcriptional activity of the glucocorticoid receptor (transactivation) is essential for the up regulation of the expression of acute-phase proteins.

In summary a new global mechanism for the integration of anti-inflammatory glucocorticoids and the IL-6-induced acute-phase response has been described.

In the second part of this thesis an identifiable model of early Jak/STAT signaling was developed that adequately describes quantitative experimental data and proved to be predictive. To develop the model an iterative cycle of model definition, identifiability based model refinement, computational experimental design and generation of quantitative biochemical experiments was applied. The quantitative biochemical experiments comprise the analysis of the stoichiometry and the dynamics of the early IL-6-induced Jak/STAT signaltransduction in wild type and SHP2 knockdown cells. The model-based analysis implies that 1) the association of gp80 and IL-6, 2) the dimerization of STAT3, and 3) the nonlinear phosphorylation of SHP2 are essential for the dynamics of early pathway activation. Most importantly it was found that SHP2 does not act as feedback inhibitor of early IL-6-induced Jak/STAT signaling. However, experimental data reveal that SHP2 acts as basal repressor of cytokine-independent basal receptor activity. Hence, SHP2 might have an essential function in the repression of constitutive cytokine-independent Jak/STAT pathway activation, which is associated with chronic inflammatory diseases and tumor genesis.