

„Charakterisierung des Einflusses von TGF- β 1 auf die Kathepsin-Expression in myelo-monozytären Zellen und der funktionellen Bedeutung einer veränderten Kathepsin B-Expression“

Zusammenfassung

Pathophysiologische Bedingungen verursachen eine Erhöhung der Kathepsin B-Expression in einer Reihe von Tumoren, die mit einer erhöhten Invasivität und Metastasierung korreliert. Die TGF- β 1-Produktion ist in vielen Tumorgeweben ebenfalls stark erhöht. Maligne Zellen reagieren auf dieses Zytokin mit einer verstärkten Expression von Matrix-abbauenden MMPs. Die Wirkung von TGF- β 1 auf die Expression der ebenfalls Matrix-degradierenden Kathepsine und die damit verbundene Signaltransduktionskaskade wurde bisher kaum analysiert.

➤ **TGF- β 1-Einfluss auf die Expression der Kathepsin B-mRNA, und die funktionelle Bedeutung einer veränderten Kathepsin B-Expression**

Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass TGF- β 1 in myelo-monozytären Tumor-Zelllinien eine Steigerung der Expression von Kathepsin B und L auf mRNA- und Proteinebene verursachte. Dabei war der Effekt auf Kathepsin B am stärksten. TGF- β 1 führte in THP-1- und MonoMac-6-Zellen zu einer erhöhten *de novo* Transkription der Kathepsin B-mRNA und es erfolgte keine Stabilisierung des Transkriptes. Die TGF- β 1-induzierte Migration von THP-1-Zellen konnte durch Zugabe des Kathepsin-Inhibitors E64 deutlich reduziert werden. Weiterhin verursachte E64d einen Apoptose-Anstieg in THP-1-Zellen der durch Koinkubation des Kathepsin-Inhibitors mit TGF- β 1 und den dadurch induzierten Anstieg der Kathepsin B-Expression auf Basalniveau gegentitriert werden konnte. Diese Ergebnisse verdeutlichen die Beteiligung der TGF- β 1-induzierten Kathepsin B-Expression an der Migrations- und Invasionsfähigkeit von THP-1-Zellen und die antiapoptotische Wirkung der Protease, ein Befund der das Gesamtbild einer erhöhten Malignität von Kathepsin B-überexprimierenden Tumorzellen ergänzt.

➤ **Analyse der TGF- β 1-induzierten Smad-vermittelten Signalkaskade und der TGF- β 1-reaktiven Einheiten auf dem Kathepsin B-Promotor und dem ersten Intron**

Die TGF- β 1-Signalkaskade kann über Smad-abhängige und/oder Smad-unabhängige MAP-Kinase-vermittelte Signalwege verlaufen. Die Smad2/3- und MAP-Kinase-abhängigen Signalwege wurden in allen Zelllinien aktiviert. Monozytäre Zelllinien zeigen eine sehr geringe/fehlende Smad1 mRNA-Expression im Vergleich zu der Lungenepithelzelllinie A-549. In diesen Zellen bewirkt TGF- β 1 eine Erniedrigung der Kathepsin B-Expression. Smad1 ist vermutlich für die gegensätzliche, TGF- β 1-verursachte Kathepsin B-Genregulation in den beiden Zelltypen verantwortlich.

Die Inhibition der Proteinkinasen ERK1/2 und JNK verstärkte in THP-1-Zellen die Kathepsin B mRNA-Expression. Demzufolge inhibieren diese Kinasen die TGF- β 1-induzierte Kathepsin B mRNA-Expression.

In einem 7,35 kb umfassenden Promotorbereich des Kathepsin B-Gens wurden keine TGF- β 1-reaktiven regulatorischen Elemente gefunden. Dagegen wurde im Bereich des 1. Introns eine Smad-Konsensussequenz identifiziert, die ursächlich an der Induktion der Kathepsin Genexpression durch TGF- β 1 beteiligt war.

Die Ergebnisse zeigen, dass das erste Intron des Kathepsin B-Gens eine potentielle *enhancer*-Funktion für die Aufregulation der Kathepsin B-Expression in THP-1-Zellen nach TGF- β 1-Inkubation übernehmen könnte.