

FUNKTION DER PHOSPHOLIPASE D2 BEI DER DESENSIBILISIERUNG UND INTERNALISIERUNG DES μ -OPIOIDREZEPTORS. Lars-Ove Brandenburg, Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg.

Auf der Suche nach intrazellulären Proteinen, die an der Endozytose des μ -Opiatrezeptors (MOR1) beteiligt sind, wurde die Phospholipase D2 (PLD2) als ein mit dem Rezeptor interagierendes Protein identifiziert. Bei der PLD2 handelt es sich um eine plasmamembran-assoziierte Phosphodiesterase, die eine Rolle bei der Bildung endozytotischer Vesikel spielt.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß der PLD2 auf die agonisten-induzierte Internalisierung und Desensibilisierung des MOR1 untersucht. HEK293-Zellen wurden für die Untersuchungen mit MOR1 und PLD2 kotransfiziert. Die Interaktion zwischen dem MOR1 und der PLD2 konnte mit Hilfe der Koimmunopräzipitation bestätigt werden. Die Stimulierung der Zellen mit dem Rezeptor-Agonisten DAMGO hatte eine dreifache Zunahme der PLD2-Aktivität zur Folge. Im Gegensatz dazu führte Morphin, das keine Internalisierung des MOR1 induziert, zu keiner PLD2-Aktivierung. Die DAMGO-vermittelte PLD2-Aktivierung konnte durch Brefeldin A, einen Inhibitor des ADP-Ribosylierungsfaktor (ARF), gehemmt werden, wohingegen der Proteinkinase C-Inhibitor Calphostin C die Aktivierung nicht beeinflussen konnte. Dies spricht dafür, daß die MOR1-vermittelte PLD2-Aktivierung ARF- und nicht PKC-abhängig erfolgt.

Der zweite Teil dieser Arbeit verdeutlichte, daß die alleinige Behandlung der Zellen mit Morphin oder dem Phorbolster PMA, welches die PLD2 über die PKC aktiviert, zu keiner Endozytose des MOR1 führt. Erst die kombinierte Stimulierung des MOR1 durch Morphin und der PLD2 durch PMA zog eine Internalisierung des MOR1 nach sich. Umgekehrt konnte gezeigt werden, daß die Hemmung der PLD2-vermittelten Phosphatidsäure-Produktion durch 1-Butanol oder die Überexpression einer katalytisch inaktiven PLD2-Mutante (nPLD2) eine drastische Verringerung der agonisten-vermittelten Internalisierung zur Folge hatte.

Im dritten Teil dieser Arbeit wurde der Einfluß der PLD2 auf die agonisten-induzierte De- und Resensibilisierung des MOR1 untersucht. Die Ergebnisse zeigten, daß die Inhibition der PLD2 in einer beschleunigten Desensibilisierungsrate und verzögerten Resensibilisierung des MOR1 resultiert. Dies spricht für das Modell, wonach die Rezeptor-Internalisierung ein bedeutender Mechanismus für die Reaktivierung des MOR1 ist.

Damit konnten die Ergebnisse dieser Arbeit erstmals die essentielle Rolle der PLD2 in der agonisten-induzierten Endozytose des MOR1 aufzeigen.