

M. Sc. Liquan Yang

Thema: Die Rolle der Phospholipase D2 in der agonisten-induziert Endozytose von Opioid Rezeptoren

Zusammenfassung

Zu den klassischen Opiatwirkungen zählen neben der Analgesie auch die Atemdepression und die Suchtauslösung. Opiate vermitteln ihre Effekte durch die Interaktion mit spezifischen G Protein-gekoppelten Opioidrezeptoren. Die Endozytose von Opioidrezeptoren nach Agonistenbehandlung gehört zu den wichtigsten regulatorischen Prozessen der Signaltransduktion von Opioiden. Unsere Arbeitsgruppe konnte kürzlich zeigen, dass der μ -Opioidrezeptor (MOR) mit der Phospholipase D2 (PLD2) interagiert und die MOR-vermittelte Aktivierung der PLD2 für die Induktion der MOR-Endozytose essentiell ist. In der vorliegenden Arbeit fanden wir heraus, dass der δ -Opioidrezeptor (DOR) ebenfalls mit der PLD2 interagiert und der DOR-Agonist DPDPE die PLD2 in HEK293 Zellen über einen PKC-unabhängigen Weg aktivieren kann. Quantitative Internalisierungsassays und konfokalmikroskopische Studien zeigten, dass eine PLD2-Koexpression das Ausmass und die Geschwindigkeit der agonist-induzierten DOR-Endozytose erhöhte, wohingegen eine Hemmung der PLD2, mittels Expression einer katalytisch inaktiven PLD2-Mutante (PLD2-K758R), die DPDPE-induzierte DOR-Endozytose deutlich senkte. Ebenso konnte die DOR-Endozytose durch die Hemmung der PLD2-vermittelten Phosphatidsäuresynthese mittels 1-Butanol blockiert werden. Diese Beobachtungen lassen vermuten, dass die PLD2-Aktivität für die agonist-induzierte DOR-Endozytose erforderlich ist und dass Phosphatidsäure (PA) dabei eine wichtige Rolle spielt. PA kann durch die PA-Phosphohydrolase in DAG überführt und DAG durch die DAG Kinase wieder in PA umgewandelt werden. Die Inhibition der PA-Phosphohydrolase schwächte sowohl die DPDPE-induzierte DOR Endozytose als auch die DAMGO-induzierte MOR-Endozytose ab. Demgegenüber führte die Inhibition der DAG Kinase zu einem Anstieg der DPDPE-induzierten DOR-Endozytose bzw. DAMGO-induzierten MOR-Endozytose. Darüber hinaus führte die Zugabe von DOG, einem synthetischen und aufgrund von kürzeren Fettsäuren zellpermeablen Analogon des DAG, zu einem deutlichen Anstieg der agonist-vermittelten DOR und MOR Endozytose, wohingegen eine Hemmung der Proteinkinase C (PKC) die agonist-induzierte

Opioidrezeptorendozytose nicht beeinflusste. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass das aus PA synthetisierte DAG an der agonist-induzierten DOR- und MOR-Endozytose über einen PKC-unabhängigen Weg beteiligt ist. Wir konnten ebenfalls zeigen, dass die PLD2-Aktivität und die nachfolgende Bildung von DAG aus PA für die opiatrezeptorvermittelte Aktivierung der p38 MAPK erforderlich ist, welche an der Endozytose des DOR und MOR beteiligt ist.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die PLD2-Aktivität die agonisten-induzierten Endozytose des δ - und μ -Opioidrezeptors reguliert. An diesem Prozess ist das aus dem PA gebildete DAG und im Weiteren die Aktivierung der p38 MAPK beteiligt.