



Claudia Mäck (Autor)

**Interzelluläre Signaltransduktion durch Cytokine in
der Leber: Induktion von Akut-Phase-Proteinen in
Hepatocyten und Adhäsionsmolekülen in
Sinusoidalen Endothelzellen durch Anaphylatoxin
C5a- und LPS-abhängige Cytokin-Freisetzung aus
Kupferzellen**

**Interzelluläre Signaltransduktion
durch Cytokine in der Leber
Induktion von Akut-Phase-Proteinen in Hepatocyten und
Adhäsionsmolekülen in Sinusoidalen Endothelzellen
durch Anaphylatoxin C5a- und LPS-abhängige
Cytokin-Freisetzung aus Kupferzellen**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Claudia Mäck
aus Northeim

Göttingen 2001

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/3505>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

1. EINLEITUNG

1.1 Funktion der Parenchym- und Nichtparenchymzellen in der Leber

Als zentrales Organ im Intermediärstoffwechsel übernimmt die Leber eine Vielfalt an Funktionen. Sie spielt eine wichtige Rolle bei der Energieversorgung des Organismus durch Speicherung und Freisetzung von Glucose, durch Aminosäure-Katabolismus, Lipid-Prozessierung und Ketonkörper-Synthese. Weiterhin ist die Leber an der Steuerung des Hormonhaushalts beteiligt, indem sie (Pro-) Hormone und Mediatoren synthetisiert und freisetzt, andererseits aber auch inaktiviert [JUNGERMANN UND KATZ, 1989]. Die Leber ist für die Synthese der meisten Plasmaproteine verantwortlich, entgiftet maßgeblich Endo- und Xenobiotika und übernimmt sensorische Funktionen im Energie-, Elektrolyt- und Wasserhaushalt [JUNGERMANN UND KIETZMANN, 1996].

Das Lebergewebe besteht zu 85% seiner Zellmasse aus *Hepatocyten* als den eigentlichen Parenchymzellen. Diese laufen zu Leberzellbalken geordnet radiär auf die *Vena centralis* zu und sind für organspezifische Aufgaben im Intermediärstoffwechsel verantwortlich. Neben den Hepatocyten existieren mindestens vier Arten von Nicht-Parenchymzellen, die sich bevorzugt entlang der blutgefüllten Sinusoide befinden und anatomisch und funktionell in enger Beziehung zu den Parenchymzellen stehen (Abb. 1).

Einen Großteil (ca. 70%) dieser nichtepithelialen Zellen machen die fenestrierten *Sinusoidalen Endothelzellen* aus. Die Fenestrae mit einem Durchmesser von 100-200 nm ermöglichen Makromolekülen aus den Sinusoiden freien Zugang zur Hepatocytenoberfläche, halten aber gleichzeitig zelluläre und hochmolekulare Substanzen zurück, so dass die Endothelzellen als Filter zwischen Hepatocyten und Blut fungieren.

Neben den Endothelzellen bilden die Antigen-präsentierenden *Kupfferzellen* als sessile Makrophagen den Hauptbestandteil des retikuloendothelialen Systems im Organismus [MAC PHEE et al., 1993]. Die Kupfferzellen machen ca. 20% der Nichtparenchymzellen aus. Sie liegen innerhalb der sinusoidalen Kapillaren [BURT et al., 1993] und ragen mit ihren cytoplasmatischen Fortsätzen in den Disse'schen Raum, den Kommunikationsort zwischen Parenchym- und Nichtparenchymzellen. Diese topologische Position ermöglicht es ihnen, potentielle Pathogene wie Mikroorganismen, Endotoxine und Immunkomplexe, sowie andere körpereigene oder körperfremde Makromoleküle aus dem Pfortaderblut zu entfernen. Nach Aktivierung können die Kupfferzellen ein weites Spektrum löslicher Mediatoren wie Cytokine, Prostaglandine und reaktive Sauerstoffspezies freisetzen [DECKER et al., 1990].

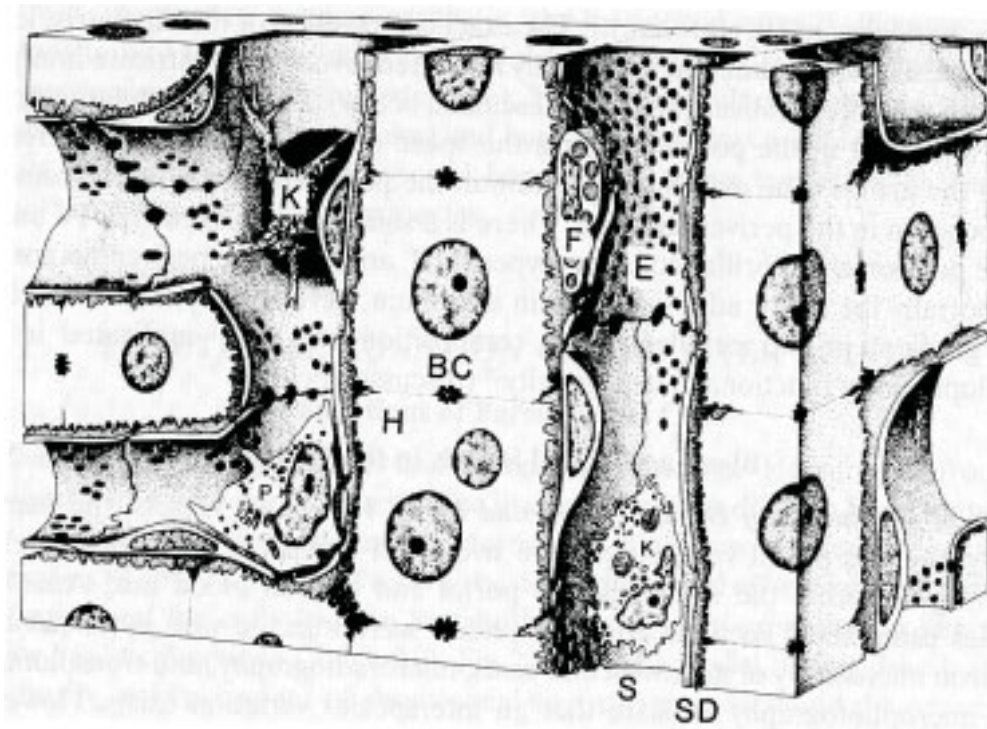


Abb. 1: Schematische Darstellung des Lebergewebes. Das Parenchym besteht aus Zellbalken, die von benachbarten Hepatocyten (H: hepatocytes) gebildet werden. Dazwischen liegen die blutgefüllten Sinusoide (S: sinusoids), die von fenestrierten sinusoidalen Endothelzellen (E: endothelial cells) ausgekleidet werden und ihrerseits von „fettspeichernden“ Perisinusoidalzellen (F: fat storing cells) umgeben sind. Kupferzellen (K: Kupfer cells) und Pitzellen (P: Pit cells) ragen in das sinusoidale Lumen hinein. Zwischen den Hepatocyten und den Endothelzellen der Sinuswände befindet sich der Disse'sche Raum (SD: space of Disse), in dem die extrazelluläre Matrix lokalisiert ist. Mit ihrer apikalen Plasmamembran bilden die Hepatocyten die Gallenkanälchen, Canaliculi biliferi (BC: bile canaliculi) [nach SASSE et al., 1992].

Weiterer Bestandteil der Nichtparenchymzellen (ca. 10%) sind die Vitamin-A-speichernden *Perisinusoidalzellen* (Itozellen, hepatische Sternzellen), die sich im Disse'schen Raum befinden. Durch ihre Fähigkeit zur Biosynthese von Matrixkomponenten wie Kollagenen und Proteoglykanen [BOUWENS et al., 1992] können sie eine bedeutende Rolle in der zur Leberzirrhose führenden Leberfibrosierung spielen.

Pitzellen (ca. 1% der Nichtparenchymzellen) sind als Leber-assoziierte Lymphozyten mit natürlicher Killerzellaktivität an der luminalen Oberfläche des Sinusoids angeheftet [BURT et al., 1993].

1.2 Auslöser und Mediatoren von Entzündungsreaktionen

Entzündungsreaktionen können durch Verletzungen, Gewebsnekrosen, sowie auch durch virale oder bakterielle Infektionen hervorgerufen werden. Zu den klassischen Auslösern und Mediatoren von Entzündungsreaktionen gehören neben Antigen-Antikörper-Komplexen vor allem die Komplementkomponenten Anaphylatoxin C3a und C5a und die als Endotoxine bezeichneten Lipopolysaccharide (LPS) der äußeren Membran Gram-negativer Bakterien.

Die Anaphylatoxine C3a und C5a

Das Komplementsystem, das zur humoralen Immunabwehr gehört, besteht aus hochmolekularen Proteinen in Plasma und Körperflüssigkeiten, die hauptsächlich intrahepatisch von Hepatocyten synthetisiert werden [RAMADORI et al., 1984, ANTHONY et al., 1985]. Die Komplementkomponenten liegen als inaktive Vorstufen vor und können auf drei verschiedene Weisen kaskadenförmig aktiviert werden (Abb. 2): auf *klassischem Weg* durch Antigen-Antikörper-Komplexe, auf dem *Lektin-Weg* durch mannanbindendes Lektin, das sich an Mannose-haltige Proteine oder Kohlenhydrate auf Bakterien und Viren heftet und auf *alternativem Weg* durch mikrobielle Oberflächenbestandteile. Während die Aktivierung über die klassische Teilsequenz die spezifische Bindung von Antikörpern an ein Antigen zur Voraussetzung hat, kann die Komplementkaskade über den alternativen Weg antikörperunabhängig auch durch Lipopolysaccharide aktiviert werden. Die besondere biologische Bedeutung der alternativen Komplementaktivierung besteht daher in der sehr schnellen Einleitung von Abwehrmaßnahmen des Organismus gegen pathogene Erreger, ohne dass zuvor Antikörper durch spezifische Immunzellen bereitgestellt werden müssen.

Alle drei Wege der Komplementaktivierung führen zur enzymatischen Spaltung der Komplementkomponente C3 durch die C3-Konvertase. Dieser Angelpunkt der Kaskade führt zu den unterschiedlichen Effektorfunktionen: der Entstehung des porenbildenden Membranangriffskomplexes, der Opsonierung von Fremdpartikeln zu deren Phagozytose durch Makrophagen und der Bildung der Anaphylatoxine (Abb. 2).

Infolge ihrer Aktivierung werden von den N-Termini der α -Untereinheiten der dritten und fünften Komplementkomponente (C3 bzw. C5) proteolytisch die großen Fragmente C3b und C5b und die kleinen Peptide C3a und C5a abgespalten. Sowohl C3a als auch C5a besitzen einen Arginin-Rest am C-Terminus und befinden sich unter der Kontrolle spezifischer Carboxypeptidasen. Durch Abspaltung des terminalen Arginin wird C3a (human 77 AS, Ratte 78 AS) *in vivo* durch die Carboxypeptidase B sehr schnell in seine inaktive (C3a des-Arg) Form umgewandelt - anders als C5a - und kann vermutlich deswegen nur lokal seine Wirkungen ausüben [ATKINSON UND EISEN, 1990]. C5a ist ein Glykopeptid (human 74 AS [FERNANDEZ UND HUGLI, 1987], Ratte 77 AS [ROTHERMEL et al., 1997a]) mit sechs

konservierten Cysteinresten, die intramolekulare S-S-Brücken bilden [ZUIDERWEG et al., 1989]. Auch C5a kann Angriffspunkt für Carboxypeptidasen sein, anders als C3a ist C5a aber selbst nach Abspaltung des Argininrestes (C5a des-Arg) zumindest noch teilweise aktiv: 10^{-8} - 10^{-7} M C5a-desArg hatte eine ähnlich starke chemotaktische Wirkung auf Leukocyten wie 10^{-9} - 10^{-10} M des intakten humanen C5a [FERNANDEZ AND HUGLI, 1978]. C5a ist daher in den meisten untersuchten Reaktionen ein stärkerer und um ein Vielfaches effektiverer Agonist als C3a. Die klassischen anaphylaktischen Wirkungen beruhen einerseits auf direkter Aktivierung von Effektorzellen, andererseits auch auf der Synthese und Sezernierung zahlreicher Entzündungsmediatoren [FRANK UND FRIES, 1991]. So kennzeichnen die Peptidmediatoren C3a und C5a ein breites Spektrum an lokalen und systemischen Funktionen: Sie führen zur Kontraktion glatter Muskulatur, erhöhen die vaskuläre Permeabilität und stimulieren die Chemotaxis und Aktivierung von Leukocyten [FRANK UND FRIES, 1991]. Weiterhin induzierten C3a und C5a die Freisetzung von Histamin aus Basophilen und Mastzellen [JOHNSON et al., 1973].

Biogenese von Anaphylatoxinen

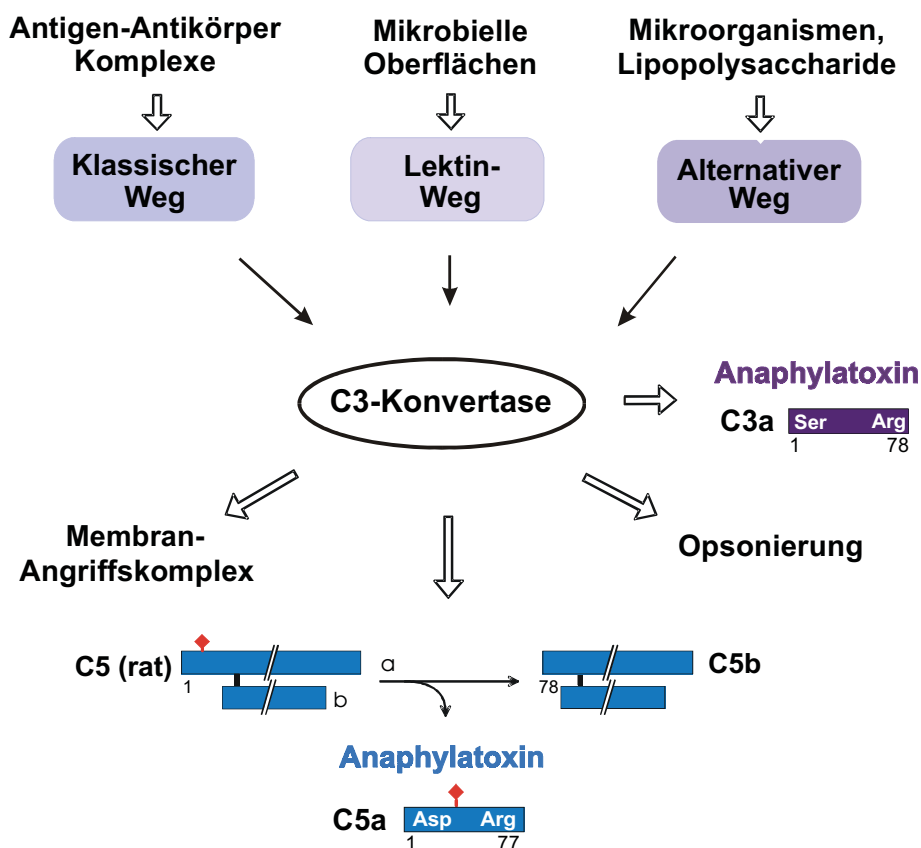


Abb. 2: Bildung der Anaphylatoxine. Erläuterungen s. Text.