

1 Einleitung

Urotensin-II, ein Peptidhormon, wurde 1969 als Neuropeptid aus dem Rückenmark des Knochenfisches *Gillichthys mirabilis* isoliert (Bern und Lederis, 1969). Im menschlichen Gewebe wurde Urotensin-II (UII) erst im Jahr 1998 entdeckt (Coulouarn et al., 1998). UII gilt als stärkster bekannter Vasokonstriktor (Ames et al., 1999). Die Struktur von UII ist speziesabhängig, das Peptid kann zwischen 11 und 14 Aminosäuren umfassen (Abb.1). Das zyklische Motiv wird von den beiden Cysteinen über eine Disulfidbrücke gebildet (Bern et al., 1985). Die über 550 Millionen Jahre hoch konservierte Aminosäuresequenz CFWKYC am C-Terminus des UII deutet auf eine signifikant physiologische Funktion hin (Richards und Charles, 2004), während der N-Terminus des UII in Länge und Aminosäuresequenz von Spezies zu Spezies

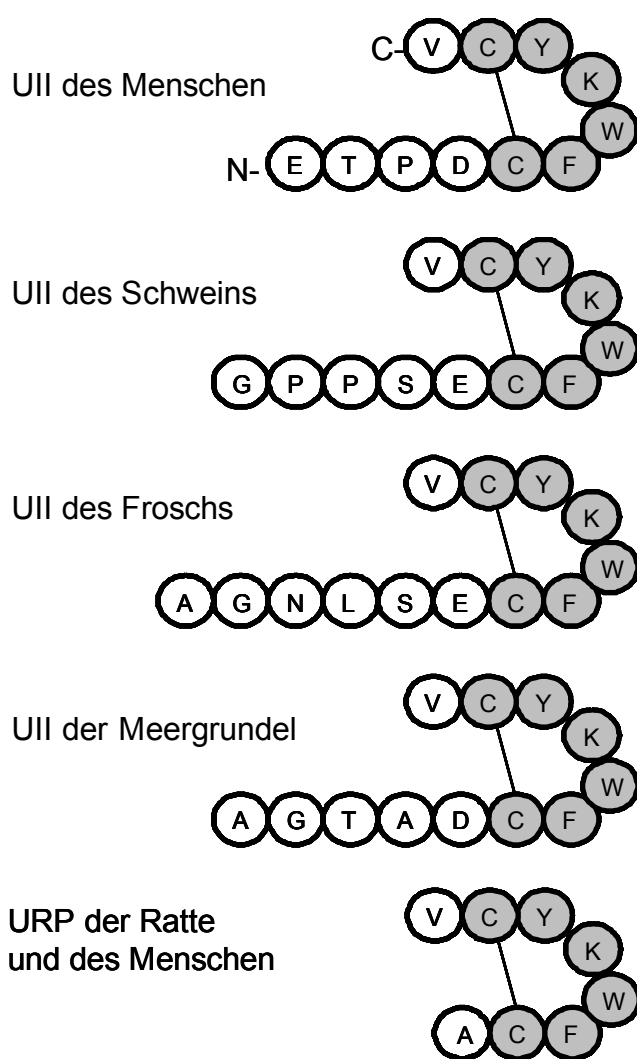


Abb. 1: Aminosäuresequenzen des UII und URP unterschiedlicher Spezies.

variiert und keine bekannte wichtige Funktion besitzt (McMaster et al., 1986; Itoh et al., 1988). Vor dem zyklischen Ring befindet sich N-terminal ein saurer Aminosäurerest (Asparaginsäure oder Glutaminsäure) und nach dem zyklischen Ring C-terminal ein aliphatischer Aminosäurerest (Valin oder Isoleucin). Die konservierte zyklische Struktur (besonders die Aminosäuren Tryptophan, Lysin, Tyrosin und Phenylalanin) sind für die biologische Aktivität des UII verantwortlich (McMaster et al., 1986; Kinney et al., 2002; Flohr et al., 2002; Brkovic et al., 2003). Ein weiteres verwandtes UII-Peptid ist das URP, welches zuerst aus dem Gehirn der Ratte isoliert wurde. URP ist ein 8 Aminosäuren langes, zyklisches Peptid (Abb.1), dass sich am C-terminalen Ende die Aminosäuresequenz CFWKYC mit UII teilt (Richards und Charles, 2004; Watson et

al. 2004). URP konnte bisher im Menschen, der Maus und der Ratte nachgewiesen werden (Sugo et al., 2003). Ull und URP entstehen jedoch aus unterschiedlichen Vorläuferpeptiden, welche von unterschiedlichen Genen kodiert werden (Nothacker und Clark, 2005). Das Gen für das Präpro-Ull liegt auf Chromosom 1p36 und für den URP-Vorläufer auf Chromosom 3q28. Ull entsteht aus einem Präpro-Vorläuferpeptid, das beim Menschen in zwei unterschiedlichen Splicingvarianten (Abb.2) vorkommt, aus denen Ull identischer Sequenz entsteht. Isoform A ist 139, Isoform B 124 Aminosäuren lang (Coulouarn et al., 1998 ; Ames et al., 1999).

2A:

```

      10           20           30           40           50
METNVFHLML CVTSARTHKS TSLCFGHFNS YPSLPLIHDL LLEISFQLSA
      60           70           80           90          100
PHEDARLTPE ELERASLLQI LPEMLGAERG DILRKADSST NIFNPRGNLR
      110          120          130
KFQDFSGQDP NILLSHLLAR IWKPYKKRET PDCFWKYCV
    
```

2B:

```

      10           20           30           40           50
MYKLASCCLL FIGFLNPLLS LPLLDREIS FQLSAPHEDA RLTPPEELERA
      60           70           80           90          100
SLLQILPEML GAERGDILRK ADSSTNIFNP RGNLRKFQDF SGQDPNILLS
      110          120
HLLARIWKPY KKRETPDCFW KYCV
    
```

Abb.2: Aminosäuresequenzen der Präpro-Ull Isoform A (2A) und B (2B) des Menschen. Die Ull-Sequenz ist fett markiert.

Ull und URP werden beide als endogene Liganden des Urotensinrezeptors (UTR) angesehen. Der UTR wurde im Menschen zuerst von Ames et al. identifiziert. Er ist ein G-Protein gekoppelter Rezeptor (G_{q11}) und gehört zur 7 Transmembranrezeptor-Familie (Ames et al., 1999; Marchese et al., 1995). Das Gen für den humanen UTR (hUTR) liegt auf Chromosom 17q25.3 und zeigt 75% Sequenzübereinstimmung mit dem UTR der Ratte (rUTR). Er besitzt 389 Aminosäurereste und zwei potentielle N-Glykosylierungsstellen in der N-terminalen Region. Der UTR zeigt strukturelle Ähnlichkeiten mit dem Somatostatin Rezeptor der Subgruppe 4 und einigen Opiatrezeptoren (Marchese et al. 1995). Für die Rezeptorerkennung und Aktivierung sind die Aminosäuren Trp7, Lys8 und Tyr9 des Ull erforderlich (Brkovic et al., 2003; Flohr et al., 2002). Die Interaktion zwischen Ull und rUTR geht von dem Lys-Rest des Ull aus, welches sich dem Asp130-Rest der Seitenkette der Transmembrandomäne 3 des UTR nähert. Dies führt zu einer Bindung zwischen den Ull-Aminosäuren Trp7, Lys8 und Tyr9 und dem Rezeptor (Kinney et al., 2002). Ull

und URP interagieren spezifisch mit den extrazellulären Loops II und III des hUTR (Boivin et al., 2006).

Patacchini et al. beschrieb zwei humane UII-Antagonisten, die UII-Derivate Urantide ([Pen5-DTrp7-Orn8]hU-II(4-11)) und [Pen5, Orn8]hU(4-11). Beide blockieren die UII induzierten Kontraktionen in der isolierten Brustorta der Ratte, während sie keinen Einfluss auf die durch Endothelin-1 und Noradrenalin hervorgerufenen kontraktile Effekte haben (Patacchini et al., 2003). Urantide bindet spezifisch an den extrazellulären Loop II des humanen UTR (Boivin et al., 2006). Weitere Experimente haben gezeigt, dass Urantide konzentrationsabhängig die Mobilisierung von Ca^{2+} in HEK293_{hUT} und HEK293_{rUT}-Zellen in Anwesenheit von 10nM und 100nM UII hemmt (Camarda et al. 2002).

Die durch UII vermittelte Vasokonstriktion erfolgt über die Bindung von UII an den G-Protein gekoppelten UTR glatter Gefäßmuskelzellen. Dadurch wird die Phospholipase C (PLC) aktiviert, was die Hydrolyse von Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP_2) zu Diacylglycerin (DAG) und Inositol-1, 4, 5-triphosphat (IP_3) bewirkt. Die Entstehung von IP_3 verursacht eine Calcium-Ionen (Ca^{2+})-Freisetzung aus den sarkoplasmatischen und endoplasmatischen Retikulum, den intrazellulären Speichern, sowie den Einstrom extrazellulären Ca^{2+} . Der erhöhte zyttoplasmatische Ca^{2+} -Spiegel führt zur Kontraktion der glatten Gefäßmuskelzellen. Das durch den PLC-vermittelten Signalweg entstandene DAG stimuliert zudem die Proteinkinase C, was zur Aktivierung des RhoA/Rho-Kinase (ROCK) Signalwegs sowie zur Vasokonstriktion der Gefäßmuskelzelle führt (Sauzeau et al., 2001).

In Ratten führt UII zur Kontraktion der Brustarterie, der Karotis und der Koronararterien (Itoh et al., 1987 und 1988; Douglas et al., 2000) und zur Relaxation peripherer Gefäße wie den Mesenterialgefäßen (Bottrill et al., 2000; Gardiner et al., 2001) und der Nierenarterie (Zhang et al., 2003) in Anwesenheit eines funktionierenden Endothels. In isolierten, perfundierten Rattenherzen konnte ein dosisabhängiges Ansteigen des koronaren Perfusionsdrucks, welcher durch die NO-Synthese und Cyclooxygenasehemmer verstärkt wird, festgestellt werden (Gray et al., 2001). Bei höheren UII-Konzentrationen kehrt der koronare Perfusionsdruck zur Basislinie zurück. Stickstoffmonoxid (NO) und Prostaglandine können eine UII-vermittelte Kontraktion in Koronararterien (Bottrill et al., 2000) und der Lungenaorta (Maguire et al., 2000; MacLean et al., 2000) von Ratten auslösen. Obwohl UII in der Lungenaorta der Ratte zur Kontraktion führt, hat es keinen Effekt in kleinen

Lungenarterien (MacLean et al., 2000). Ames et al. fand eine starke Vasokonstriktion ausgelöst durch UII in isolierten Gefäßen der Ratte wie der Brustarterie, der Karotis, den Koronararterien, Lungenarterien, Nierenarterien, Oberschenkalarterien und Basilararterien (Ames et al., 1999). Intrarenale Infusionen von UII in anästhesierte Ratten bewirkt ein Ansteigen des renalen Blutflusses, des Wassers und der Salzexkretion in Abhängigkeit der UII-Konzentration (Zhang et al., 2003). Eine UII-vermittelte Vasokonstriktion tritt verstärkt an isolierten Lungenarterien von Ratten mit chronischer Hypoxie auf. Dies deutet auf eine Beteiligung von UII bei pathologisch erhöhtem Druck im Lungenkreislauf (pulmonaler Hypertonie) bei endothelialer Dysfunktion hin. In Altweltaffen haben niedrige intravenöse UII-Gaben (<30 pmol/kg) einen Anstieg des Herzzeitvolumens und regionale Vasodilatation zur Folge. Ames et al. fand heraus, dass hUII bei Makaken in niedrigen Dosen (<30 pmol/kg) den peripheren Gefäßwiderstand reduziert und eine leichte Erhöhung des Herzzeitvolumens ohne große Veränderungen des Blutdrucks zur Folge hat. Bei höheren Dosen von 100-3000 pmol/kg erhöhte sich der Gefäßwiderstand unter Abnahme des Herzzeitvolumens bis zum Kreislaufkollaps mit Todesfolge (Ames et al., 1999). Die Fähigkeit von UII systemische Vasokonstriktion auszulösen, die eine katastrophale myokardiale Dysfunktion bedingen, unterscheidet es von anderen vasokonstringierend wirkenden Peptiden wie Endothelin-1 und Angiotensin-II. Diese Feststellung konnte durch die Studie von Zhu et al. bestätigt werden (Zhu et al., 2004). Ein schwächeres vasoaktives Profil zeigt UII in Schweinen, Kaninchen, Meerschweinen, Neuweltaffen und Mäusen (Douglas et al., 2000; Camarda et al., 2002). Bei intravenöser Verabreichung von UII in Schafe bei vollem Bewusstsein wurde eine anhaltende Tachykardie bei Zunahme des arteriellen Drucks gefolgt von einer unauffälligen Hypotonie beobachtet. Es erfolgte keine Änderung des Herzzeitvolumens, der Herzkontraktilität und dem Plasmaglukosegehalt (Watson et al., 2003). In UTR Knockout-Mäusen konnte keine Änderung des Herzschlagvolumens, des Hauptarteriendrucks, der Herzrate und des Herzzeitvolumens beobachtet werden (Behm et al., 2003). In isolierten Brustarten von Wildtyp-Mäusen erzeugt UII starke Spasmen, währenddessen UII in isolierten Gefäßen von Knockout-Mäusen eine geringe Vasokonstriktion auslöst. Die Wirkung von UII beim Menschen zeigt widersprüchliche kontraktile Effekte. Geringe kontraktile Effekte wurden in Endothel-befreiten (Maguire et al., 2000) und Endothel-intakten (Russell et al., 2001) isolierten Koronararterien im Menschen gefunden. Nicht nur in

isolierten Koronararterien, sondern auch in Brustarterien, Radialarterien, Lungenarterien, Oberschenkelvenen und Nabelvenen konnte Ull *in vitro* eine Vasokonstriktion auslösen (Maguire et al., 2000; Bennett et al., 2004). Die Anwesenheit von Ull-mRNA und UTR-mRNA in humanen Gefäßendothelzellen (Totsune et al., 2003; Douglas und Ohlstein, 2000) weisen darauf hin, dass endotheliale Faktoren wie Stickstoffmonoxid (NO) die Aktivität von Ull modulieren können und somit zur kontraktilen Variabilität beitragen. Stirrat et al. beschrieb einen durch Ull verlangsamten Endothelin-1 induzierten Tonus von Endothel-intakten kleinen muskulären Lungenarterien (Stirrat et al., 2001), während MacLean et al. durch Ull ausgelöste Kontraktionen in Lungenarterien in Anwesenheit eines NO-Synthase-Inhibitors beschrieb (MacLean et al., 2000). UTR Levels sind in der humanen Koronararterie geringer als in der Brustorta der Ratte. Bolus-Injektionen, intravenöse Schnellinjektion hoher Ull-Dosen im Menschen sind ethisch nicht vertretbar. Ull-Aktivitäten im Menschen *in vivo* können jedoch über eine Venenverschlußplethysmographie, mit welcher der Vorderarm Blutfluss in der Armschlagader gemessen wird, bestimmt werden. Böhm et al. beobachtete eine dosisabhängige Reduktion des Vorderarm Blutflusses, welche bei maximaler Ull-Dosis (300pmol/kg) 30% betrug (Böhm et al., 2002). Dies lässt vermuten, dass Ull im Menschen eine Vasokonstriktion auslöst. Die Reduktion des Vorderarm Blutflusses ist lokal und ohne systemische Effekte. Im Gegensatz zur Studie von Böhm zeigt eine umfangreiche Studie von Wilkinson et al. ebenfalls unter Verwendung der Venenverschlußplethysmographie keinen Effekt von Ull auf den Blutfluss in beiden Armschlagadern oder der Handvene bei adäquat verwendeten Dosen (Wilkinson et al., 2002). Trotz hoher zirkulierender Ull-Level konnte keine Beeinflussung der Herzrate, des Herzzeitvolumens und des Arteriendrucks über die gesamte Infusionsdauer festgestellt werden (Wilkinson et al., 2002). Diese unterschiedlichen Ergebnisse könnten auf die persönlichen Gegebenheiten der einzelnen Versuchspersonen in den beiden Studien bedingt sein.

Im Plasma finden sich Ull-Konzentrationen (6nM) ähnlich den Dosen, die eine Vasokonstriktion in isolierten humanen Koronar-, Lungen-, Brust- und Radialarterien *in vitro* auslösen (Maguire et al., 2000; MacLean et al., 2000). Diese Daten sprechen gegen eine vasokonstriktorische Rolle von Ull im Menschen. Auch Affolter et al. zeigte, dass eine intravenöse Infusion von Ull keinen Einfluss auf die Herzrate, den arteriellen Druck und den Herzindex trotz 90fachem Ansteigen des zirkulierenden Ull-

Levels hat (Affolter et al., 2002). Ull kann konzentrationsabhängig die kontraktile Kraft des rechten atrialen und rechten ventrikulären Trabekels humaner gesunder Herzen erhöhen (Russell et al., 2001).

Hohe Expressionsraten von Präpro-Ull-mRNA finden sich in der Niere, gefolgt vom rechten Vorhof des Herzens, der Herzkammerscheidewand, dem rechten Aurikel (Herzohr) und den Blutgefäßen. Währenddessen wird der UTR in kardiovaskulären und renalen Geweben in gleichen Mengen expremiert (Matsushita et al., 2001a). Mittels Radioimmunoassays beschrieb Matsushita et al. die Ull-Konzentrationen im Urin sowie die mRNA Expression des humanen Präpro-Vorläufers (Matsushita et al., 2001a). Dabei fand er 7,4µg Ull auf 1g Kreatinin im Urin. Matsushita et al. vermuten, dass aufgrund der hohen mRNA Expression von hUll in der Niere, der Ull-Gehalt im Urin zurückzuführen ist und die Niere einen Hauptbildungsort von Ull darstellt. Bei essentieller Hypertonie und Nierentubuluserkrankungen steigt der Ull-Gehalt im Urin an (Matsushita et al., 2001a). In den Gefäßen findet sich Ull am höchsten konzentriert in der Aorta, gefolgt von der Oberschenkelarterie und der Lungenarterie (Russell et al., 2003). Ull ist aktuell der stärkste Vasokonstriktor mit einer durchschnittlich 10-, 100- und 300-fach größeren Wirksamkeit als Endothelin-1, Serotonin und Norepinephrin in der humanen Vorhofmuskulatur (Russell et al., 2001). Kontraktile Antworten auf Ull konnten jedoch nicht in einigen kleinen humanen Widerstandsgefäßen wie den kleinen Lungenarterien, abdominalen Widerstandsgefäßen und kleinen subkutanen Arterien und Venen gefunden werden (Hillier et al., 2001; Stirrat et al., 2001; MacLean et al., 2000). Die Expression von Ull und seinem Rezeptor wird durch Entzündungsmediatoren wie Interleukin-6 und 1β (Johns et al., 2004) und Interferon- γ hoch reguliert (Birker-Robaczewska et al., 2003), währenddessen das sympathische Nervensystem, ANP (atrial natriuretische Peptid) oder BNP (brain natriuretische Peptid) zu einer verringerten Expressionsrate führen (Douglas et al., 2002; Mallamaci et al., 2005). Im humanen Plasma zirkuliert Ull mit einer Konzentration von durchschnittlich 2 bis 20pmol/l (Richards und Charles, 2004). Eine erhöhte Konzentration konnte bei essentieller Hypertonie (Cheung et al., 2004), verschiedenen Herzarterienerkrankungen (Heringlake et al., 2004), ischämischer Kardiomyopathie (Lapp et al., 2004) Herzversagen (Ng et al., 2002), Diabetes mellitus (Totsune et al., 2003), Nierenversagen (Totsune et al., 2001), Eklampsie (Balat et al., 2005) und bei erhöhtem Druck in der Pfortader, der durch eine Leberzirrhose hervorgerufen wird (Heller et al., 2002), festgestellt werden.

Untersuchungen von Douglas et al. haben ergeben, dass die Überexpression von Ull und seinem Rezeptor zu myokardialer kontraktile Dysfunktion, welche mit Herzversagen im Zusammenhang steht, führt. In gesunden Herzmuskelzellen ist die Ull- und UTR-Expression niedrig, währenddessen eine Hochregulierung der Expression in Patienten mit Herzinsuffizienz gefunden wurde. Hohe Konzentrationen von Ull und UTR finden sich um Infarktzone im linken ventrikulären Herzmuskel und in Entzündungszellen (Douglas et al., 2002). Tzanidis et al. konnte eine erhöhte Expression von Ull und UTR in Ratten nach einem Herzinfarkt im Herzmuskelventrikel nachweisen (Tzanidis et al., 2003).

Ein erhöhter Level an UTR konnte im Endothel, in Herzmuskelzellen und in Fibroblasten des Herzgewebes nachgewiesen werden, während die Ull-Expression vorrangig in Chymase-positiven Mastzellen in Infarktregionen des Ventrikels erhöht ist. Dies könnte eine Rolle bei der Entwicklung einer Herzhypertrophie und Fibrose spielen (Hara et al., 2002). Totsune et al. hat gezeigt, dass Patienten mit einer Nierendysfunktion ohne Dialyse einen zweifach und Dialyse-pflichtige Patienten einen dreifach erhöhten Ull-Plasmaspiegel aufweisen (Totsune et al., 2001). Dies resultiert wahrscheinlich aus einer erhöhten Ull-Produktion oder einer gestörten Ull-Exkretion der Niere aufgrund einer Nierendysfunktion. Hypertoniker mit normaler Nierenfunktion weisen erhöhte Ull-Werte im Urin im Vergleich zu gesunden Probanden auf. Während Patienten mit einer glomerulären Funktionsstörung ohne Hypertonie, keine erhöhten Ull-Level im Urin besitzen, ist bei Hypertonikern mit einer tubulären Funktionsstörung der Niere eine erhöhte Ull-Konzentration im Urin wiederzufinden (Matsushita et al. 2001a). Dies führt zu der Annahme, dass erhöhte Ull-Werte im Urin auf eine Nierentubulusverletzung hinweisen und als potentieller Marker eingesetzt werden könnten (Matsushita et al., 2001a). Diabetes Typ II-Patienten mit einer Nierendysfunktion zeigen höhere Ull-Werte im Plasma und Urin als Patienten mit normaler Nierenfunktion (Totsune et al., 2004). Bei diabetischer Nephropathie ist ein dramatischer Anstieg von Ull und seinem Rezeptor in den tubulären Epithelzellen festzustellen (Langham et al., 2004).

Neben vasokonstringierenden Wirkungen von Ull konnten auch Endothel-abhängige vasodilatorische Effekte beobachtet werden. Ull regt in Endothelzellen die Prostacyclin- und NO-Produktion an. Dabei wird der Einstrom von Ca^{2+} in die Endothelzellen verstärkt und das Ca^{2+} an Calmodulin gebunden. Dieser Komplex bewirkt die Stimulierung der NO-Synthase, welche in Gegenwart von Sauerstoff aus

Arginin NO bildet. Das NO diffundiert aus den Endothelzellen in die glatten Gefäßmuskelzellen und bewirkt dort die Aktivierung der Guanylatzyklase (GC), was zur Hydrolyse von GTP zu cGMP führt und eine Relaxation der glatten Gefäßmuskelzellen auslöst, woraufhin die Blutgefäße dilatieren. Gibson konnte eine durch Ull ausgelöste Vasodilatation in der Rattenaorta feststellen, dessen Effekt sich nach Endothelentfernung verminderte (Gibson, 1987).

Bottrill et al. fand dosisabhängig und bei intaktem Endothel sowohl Kontraktion als auch Dilatation in Koronararterien von Ratten (Bottrill et al., 2000). Katono et al. konnte in isolierten, perfundierten Rattenherzen einen durch Ull induzierten verminderten Herzfluss und eine Vasodilatation, welche signifikant durch Cyclooxygenasehemmer inhibiert wurde, feststellen (Katono et al., 2000). Eine Inhibition der NO-Synthase schwächt die Ull-induzierte Vasodilatation ab. In humanen Lungen- und Baucharterien zeigt Ull vasodilatatorische Effekte (Stirrat et al., 2001). In narkotisierten Ratten führt Ull zur Reduktion des arteriellen Drucks mit oder ohne Ansteigen der Herzfrequenz (Abdelrahman et al., 2002; Hassan et al., 2003).

Die Präsenz von Ull und UTR in den Motorneuronen des Rückenmarks und im Hirnstamm weisen auf eine potentielle Rolle von Ull im ZNS hin (Coulouarn et al., 1998; Totsune et al., 2001; Liu et al., 1999). Ull kann spontan die Neurotransmitterfreisetzung in endständigen motorischen Nerven von Fröschen stimulieren (Brailoiu et al., 2003). Intracerebroventrikuläre (ICV) Ull-Injektionen bei Ratten lösen einen Anstieg der Herzfrequenz und des arteriellen Drucks über die Aktivierung des sympathischen Nervensystems aus (Lin et al., 2003). Lin et al. beschrieb in spontan hypertonen Ratten denselben Effekt, nur wesentlich stärker als bei normotonen Ratten (Lin et al., 2003). H-Ull hat unterschiedliche Effekte in verschiedenen Teilen des Hirns. Mikroinjektionen von Ull in A1 und A2 Regionen der Medulla der Ratte hat eine dosisabhängige Bradykardie zur Folge, während Mikroinjektionen in den paraventriculären Nucleus oder den Nucleus arcuatus einen leichten Anstieg des arteriellen Blutdrucks und der Herzfrequenz bewirken (Lu et al., 2002). Diese Ergebnisse sprechen für eine Rolle als Neurotransmitter bei der zentralen vasomotorischen Regulation. ICV Ull-Injektionen in Schafe bei Bewusstsein ging mit dem Ansteigen der Herzfrequenz, der Herzkontraktilität und dem Herzzeitvolumen einher (Watson et al., 2003).

Neben den vasoaktiven Wirkungen kann Ull auch zellproliferatorische Effekte haben. So bewirkt die Aktivierung von ERK1/2 die Zellproliferation (Ziltener et al., 2002; Tamura et al., 2003; Matsushita et al., 2003). Die Mechanismen zur Aktivierung von ERK1/2 variieren und sind Zelltyp abhängig. Eine Aktivierung von ERK1/2 kann vermittelt über den UTR erfolgen, was zur Aktivierung des PKC-vermittelten Signalwegs führt. Dies erfolgt in Nierenepithelzellen von Schweinen (LLCPK1), in glatten Muskeln der Atemwege von Ratten und in glatten Gefäßmuskelzellen in Aorten von Ratten (VSMC) (Watanabe et al., 2001a; Watanabe et al., 2001b; Chen et al., 2001; Matsushita et al., 2003). Eine weitere Möglichkeit besteht über die Src-vermittelte Aktivierung über den EGF-Rezeptor (Watanabe et al., 2001a; Watanabe et al., 2001b). Eine erhöhte mRNA-Expression von Ull und seinem Rezeptor finden sich in einigen Nebennierentumorzelllinien, eingeschlossen SW-13 Tumorzellen der Nebennierenrinde und HeLa Gebärmutterhalskrebszellen (Takahashi et al. 2001). Shenouda et al. fand erhöhte Präpro-Ull mRNA-Level in Nierentumorzellen (Shenouda et al., 2002).

Das Vorkommen vom UTR in lipidreichen, Makrophagenreichen Regionen von Gefäßwänden humaner Koronargefäße lässt eine Beteiligung von Ull an der Arteriosklerose vermuten. Oxidierte LDLs sind als Risikofaktor für Arteriosklerose bekannt. Die Interaktion von leicht oxidierten LDLs und vasoaktiven Faktoren wie Angiotensin-II, Endothelin-1 und 5-Hydroxytryptamin (5-HT) kann zur Proliferation von glatten Gefäßmuskelzellen und Arteriogenese führen (Watanabe et al., 2001a; Watanabe et al., 2001b). Die Interaktion zwischen Ull und 5-HAT spielt eine Rolle bei der pulmonalen Hypertonie, was zur Beschleunigung der Arteriosklerose bei hypertonen Patienten beitragen könnte (Watanabe et al. 2001b). Bousette et al. konnte zeigen, dass sowohl Ull als auch sein Rezeptor vermehrt in Plaqueablagerungen der Karotis exprimiert werden (Bousette et al., 2004). Rakowski et al. weist Ull eine wichtige Rolle bei der Entstehung einer Restenose nach Angioplastie mittels Ballonerweiterung in der Karotis von Ratten zu (Rakowski et al., 2005). Die Expression von UTR in der Aorta war signifikant höher in Apolipoprotein E Knockout Mäusen als bei Wildtyp Kontrollen. Dies zeigt, dass eine UTR Hochregulierung als ein Faktor bei der Entwicklung einer Arteriosklerose angesehen werden kann (Wang et al., 2006).

Es gab bisher viele Studien zum Vorkommen und den Wirkungen von Ull. Ein Urotensin-II-Konversionsenzym (UCE), welches Ull im Menschen generiert, konnte

bisher nicht identifiziert werden. Russell et al. konnte jedoch zeigen, dass Furin, eine Endoprotease, welche in vielen Zelltypen vorkommt und im transGolgi-Apparat lokalisiert ist, aus einem C-terminalen 25 AS langen Fragment des Präpro-Ull Ull generieren kann. Furin übernimmt damit die Rolle eines intrazellulären UCE. In einem zellfreien System konnte Russel et al. nachweisen, dass Trypsin aus einem C-terminalen Präpro-Ull-Fragment ebenfalls Ull generiert (Russell et al., 2004). Der proteolytische Abbau des Präpro-Ull-Fragments konnte mit Aprotinin inhibiert werden. Auch im Blut konnte eine Aprotinin-sensitive UCE-Aktivität nachgewiesen werden. Russell et al. postulierte, dass Trypsinähnliche Serin-Proteasen an der Generierung von Ull beteiligt sein könnten, wenn Präpro-Ull sekretorisch in den Blutkreislauf abgegeben wird.

Bei der Suche nach einem UCE im Nierengewebe des Schweins konnte Thiemann zwei mögliche Kandidaten für die Generierung von Ull identifizieren. In einer der gewonnenen Fraktionen konnte mit der MALDI-Fingerprint Analyse das "Pregnancy-Associated-Glycoprotein" (PAG2) identifiziert werden. In einer zweiten Fraktion mit Ull-generierender Aktivität wurde mit der LC-ESI MS/MS Analyse eine Disulfid-Isomerase-A3 identifiziert. PAG2 und Pepsin A weisen im Bereich ihrer katalytischen Zentren Sequenzhomologien auf (Szafranska et al., 1995). Thiemann untersuchte, ob Pepsin A aus dem UCE-Substrat (UCE-S) Ull generiert und demnach auch eine gewisse Wahrscheinlichkeit besteht, dass auch PAG2 aus dem UCE-S Ull generieren kann. Mittels eines Massenspektrometrie-basierendes Enzym-Screening-System (MES-System) konnte gezeigt werden, dass sowohl die Fraktion, in welcher PAG 2 identifiziert wurde als auch Pepsin A aus dem UCE-S Ull generieren können. Zudem konnten auch neben beiden Signalen (UCE-S und Ull) zwei weitere Ull-Peptide nachgewiesen werden, welche auch während der einzelnen Reinigungsschritte des Enzyms mittels MES-System neben der Ull-Generierung gefunden wurden (Thiemann, 2005). Demnach ist die Wahrscheinlichkeit hoch, dass PAG2 ein UCE des Schweins ist. Die als weiterer UCE-Kandidat identifizierte Disulfid-Isomerase-A3 kann durch eine Punktmutation von einer Isomerase in eine Serin-Protease mutieren (Urade et al., 1997). Die gereinigte Ull-generierende Fraktion konnte mit dem Serin-Protease-Inhibitor Aprotinin inhibiert werden. Das deutet darauf hin, dass ein Enzym, mit einer hohen Sequenzübereinstimmung der Disulfid-Isomerase-A3, Ull generiert. Nachdem potentielle UCE Kandidaten in der Niere des Schweins gefunden wurden, sollten nun weitere UCEs in anderen

Säugetieren identifiziert werden. Es ist bekannt, dass Ull in Zusammenhang mit Krankheiten wie essentieller Hypertonie (Cheung et al., 2004), verschiedenen Herzerkrankungen (Heringlake et al., 2004), ischämischer Kardiomyopathie (Lapp et al., 2004), Herzversagen (Ng et al., 2002) und Diabetes mellitus (Totsune et al., 2003) gebracht werden konnte. Daher ist es von großem Interesse ein UCE im Menschen zu finden und zu identifizieren, um möglicherweise Medikamente entwickeln zu können, die am Ull-generierenden Enzym angreifen. Aufgrund der Hinweise, dass es ein UCE im humanen Plasma gibt (Russell et al., 2004), war es das Ziel dieser Arbeit, ein UCE im humanem Plasma zu suchen und zu identifizieren.