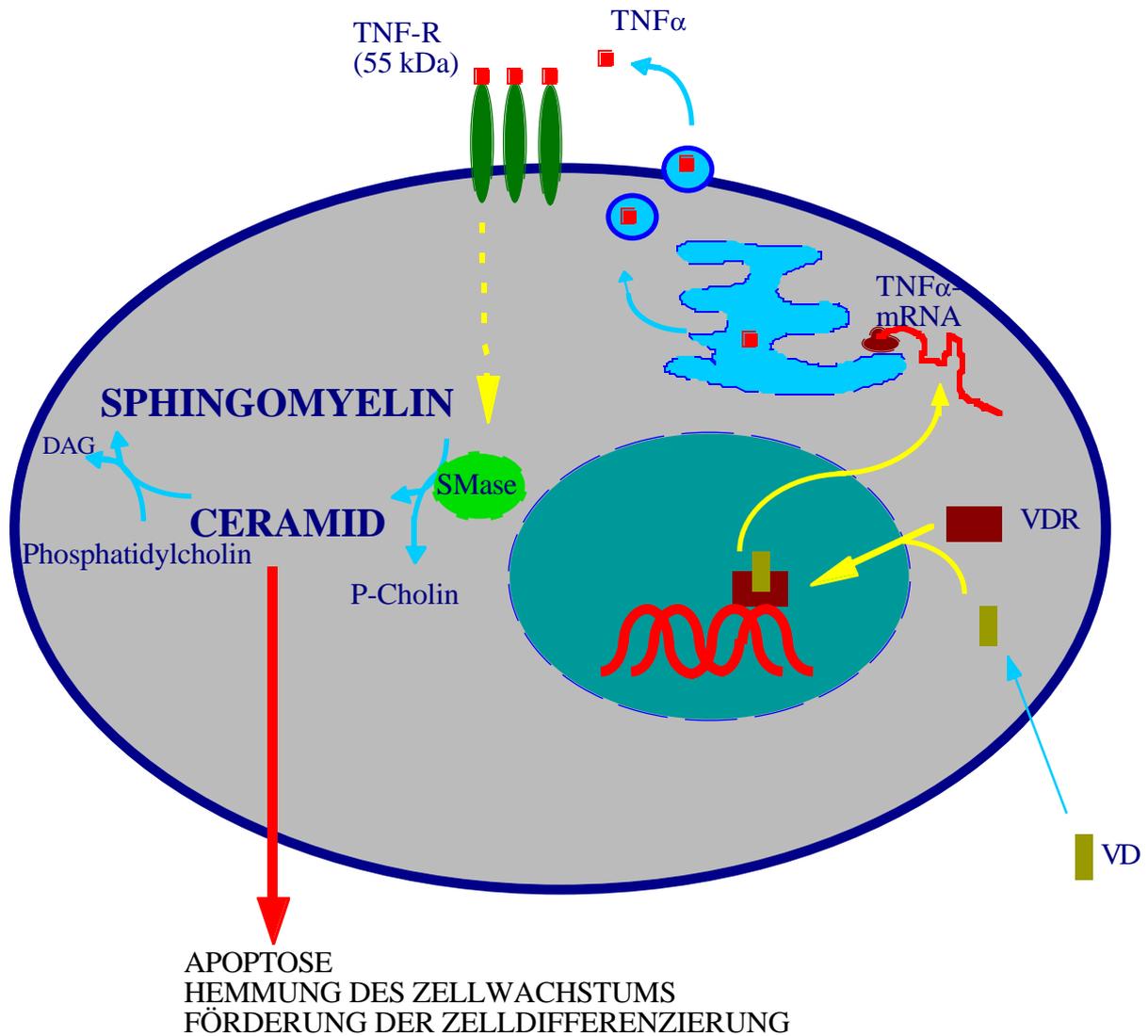


## 4.1. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Mechanismus der  $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin  $D_3$  induzierten Apoptose in humanen Keratinozyten untersucht. Dies erfolgte anhand von verschiedenen Methoden auf unterschiedlichen zellulären Ebenen. Es konnte gezeigt werden, daß  $1\alpha,25$ -(OH) $_2D_3$  seine Wirkung in humanen Keratinozyten wie Zellwachstumshemmung und Auslösen der Apoptose über die Steigerung der TNF $\alpha$ -Genexpression entfaltet. Nach Behandlung der Zellen mit  $1\alpha,25$ -(OH) $_2D_3$  ist eine erhöhte TNF $\alpha$ -mRNA zu detektieren, der in Protein translatiert wird. Das entstandene TNF $\alpha$ -Protein wird sezerniert und wirkt autokrin über seinen 55 kDa-Rezeptor auf die Zelle. In Abb. 26 ist der Ablauf schematisch dargestellt. Werden die Zellen mit einem neutralisierenden Antikörper gegen den 55 kDa-TNF $\alpha$ -Rezeptor vorbehandelt, so wird die von  $1\alpha,25$ -(OH) $_2D_3$  bewirkte Zellproliferationshemmung und Apoptose teilweise blockiert. TNF $\alpha$  löst in HaCaT-Zellen die Sphingomyelin-Hydrolyse aus, wobei Ceramid entsteht, daß als *Second Messenger* das Signal in das Zellinnere weiterleitet. Die Herabsetzung der basalen Ceramidkonzentration über Fumonisin B1, einem spezifischen Inhibitor eines Enzyms der Ceramid-Biosynthese, der Sphingosin-*N*-Acyltransferase, wirkt der  $1\alpha,25$ -(OH) $_2D_3$ -verursachten Apoptose entgegen. Exogen zugegebene zellpermeable Ceramidanaloga wie C $_2$ -Cer=O (*N*-Acetylsphingosin), C $_2$ -Cer=S (*N*-Thioacetylsphingosin) und FS-5 (4-Dodecanoylamino-decan-5-ol) führen ebenfalls zur Proliferationshemmung und Apoptose in HaCaT-Zellen, wobei die Analoga C $_2$ -Cer=O und C $_2$ -Cer=S starke Agonisten und FS-5 ein schwacher Agonist der Proliferationshemmung und Apoptose ist. Die schwache Wirkung von FS-5 ist höchstwahrscheinlich auf die fehlende Doppelbindung zwischen den Kohlenstoffatomen 4 und 5 des Sphingosinrückgrates zurückzuführen.

Neben  $1\alpha,25$ -(OH) $_2D_3$  wurden auch seine Analoga EB 1213, GS 1500, Tacalcitol und Calcipotriol in HaCaT-Zellen untersucht. Alle vier Analoga bewirkten ebenfalls die Sphingomyelin-Hydrolyse, wobei bei EB 1213 die Hydrolyse auch noch nach 6 h Behandlung zu messen war. Weiterhin wirkten die Analoga antiproliferativ und Apoptose-induzierend. Jedoch war nur EB 1213 in der Lage die mRNA für TNF $\alpha$  zu steigern, was dadurch zu erklären wäre, daß die Analoga unterschiedliche Promoterselektivität besitzen.



**Abb.26. Schematische Darstellung des Mechanismus der Wirkung von  $1,25-(OH)_2D_3$  in HaCaT-Zellen.**

VD: Vitamin D<sub>3</sub>, VDR: Vitamin D<sub>3</sub>-Rezeptor, P-Cholin: Phosphocholin, DAG: Diacylglycerin, SMase: Sphingomyelinase.