

7 Zusammenfassung

Quantitative Expressionsanalysen von CLCA-Homologen bei Mausmodellen der Zystischen Fibrose

(Hannah Holle)

Die CLCA-Genfamilie mutmaßlicher Ca^{2+} -aktivierter Cl^- -Kanäle zählt zu den eventuellen modulatorischen Genen, die maßgeblich den Phänotyp der Zystischen Fibrose beeinflussen. Aufgrund der bisherigen Erkenntnisse der Zystischen-Fibrose-Forschung weisen zahlreiche Beispiele auf eine zentrale Bedeutung von modifizierenden Genen bei der Pathogenese der Erkrankung hin, die außerhalb des *cftr*-Locus gelegen sind. Anhand elektrophysiologischer Daten, mRNA-Expressionsanalysen und kürzlich veröffentlichter Allelvariationsstudien mit Mikrosatellitenmarkern ergeben sich zunehmend Hinweise, dass ein Teil dieser modifizierenden Einflüsse von Mitgliedern der CLCA-Genfamilie, möglicherweise durch die Vermittlung einer alternativen, Ca^{2+} -aktivierter Cl^- -Leitfähigkeit, mediert werden könnte.

In der vorliegenden Arbeit wurde die mRNA-Expressionsrate der murinen mCLCA1-, mCLCA2-, mCLCA3- und mCLCA4-Homologen mittels quantitativer *real-time* RT-PCR im Dünndarm von CF- (*cftr*^{TgH(neoim)1Hgu}, *cftr*^{tm1Cam}) und WT-BALB/cJ-, -C57BL/6J-, -DBA/2J- und -NMRI-Mäusen quantifiziert. Dabei wurden große Unterschiede der mRNA-Expressionsraten aller vier CLCA-Homologen zwischen den vier WT-Mausstämmen detektiert. Die mRNA-Expressionsraten von mCLCA1 und mCLCA4 waren bei CF- und WT-Mausgruppen ähnlich hoch. Dagegen war die mCLCA3-mRNA-Expressionsrate bei allen CF-Mausmodellen deutlich erhöht. Die immunhistochemische Detektion von mCLCA3-Protein und die Identifizierung von Becherzellen mittels der PAS-Reaktion zeigten ähnlich starke Zunahmen an mCLCA3-positiven Becherzellen bei den CF-Mausmodellen. Deswegen kann mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden, dass die erhöhte mCLCA3-mRNA-Expression eine Folge der Becherzellhyperplasie war und nicht auf Regulationsmechanismen auf dem Transkriptionslevel beruhten. Die beobachteten Zunahmen an mCLCA2-mRNA-Kopienzahlen bei den CF-Mausmodellen dagegen scheinen tatsächlich auf einer hochregulierten Transkription zu beruhen. So waren Veränderungen der mRNA-Kopienzahlen nicht mit veränderten Zellkinetiken des Darmepithels assoziiert, wie mit Hilfe einer immunhistochemi-

schen Detektion des phospho-Histon3-Proteins und des aktivierte-Caspase3-Proteins bestätigt wurde. Insgesamt kann aufgrund dieser Ergebnisse geschlossen werden, dass mCLCA2 und mCLCA3 potentiell durch ihre verstärkte Expression als modifizierende Gene des Phänotyps von CF-Mausmodellen im Darm in Frage kommen.

Mit Hilfe der Sequenzierung des offenen Leserahmens von mCLCA3 konnte keine Allelvariation im *mclca3*-Gen, zumindest nicht in der kodierenden Region und bei diesen vier Mausstämmen, festgestellt werden, die mit diesen Expressionsunterschieden in Zusammenhang zu bringen gewesen wären.