

# **Modulation von *Multidrug resistance associated* Proteinen (MRP) durch Prostaglandine in humanen Lungenzellen**

## **Dissertation**

Zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat)

Vorgelegt der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät  
der Martin Luther Universität Halle-Wittenberg  
(Fachbereich Biochemie/Biotechnologie)

von Dipl. Biochemikerin Anja Rämisch  
geb. am: 07.01.1977 in Dresden

Gutachter

- 1) Prof. Dr. Gerd-Joachim Krauss
- 2) Prof. Dr. Michael Schwarz

Halle den 13.12.2005

**urn:nbn:de:gbv:3-000010196**

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000010196>]

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Zielsetzung und theoretische Hintergründe .....</b>	<b>4</b>
1.1. Zielsetzung .....	4
1.2. Grundlagen der Genese und Therapie von Lungenkrebs .....	5
1.2.1. Anatomie und <i>Clearance</i> Mechanismen der Lunge.....	5
1.2.2. Lungenkrebs .....	6
1.3. Die ABC-Transporterfamilie der <i>Multidrug resistance associated</i> Proteine (MRP)....	10
1.3.1. Charakterisierung und Struktur der ABC-Transporter.....	10
1.3.2. Klassifizierung der MRP .....	10
1.3.3. Substratspektren und Verteilung verschiedener MRP-Isoformen.....	11
1.4. Prostaglandine .....	14
1.4.1. Prostaglandine und ihre Biosynthese .....	14
1.4.2. Wirkung von Prostaglandinen.....	15
1.5. EGF und EGFR: Aufbau, Funktion und Signalkaskade .....	17
1.5.1. EGF Aufbau und Funktion.....	17
1.5.2. Die Familie der EGF-Rezeptoren und intrazelluläre Signalwege.....	19
<b>2. Chemikalien, Material, Geräte .....</b>	<b>21</b>
2.1. Chemikalien .....	21
2.2. Material .....	23
2.3. Geräte .....	24
<b>3. Methoden.....</b>	<b>26</b>
3.1. Zellkultur.....	26
3.2. Vitalitätstest: MTT- Assay .....	27
3.3. Apoptose-Messung.....	28
3.4. RNA-Isolation und RT-real- time- PCR .....	28
3.5. Proteinisolation und Western Blot .....	31
3.6. Immunzytochemischer Nachweis von Prostaglandin E2-Rezeptoren in Lungenzellkulturen.....	33
3.7. Transport-Aktivität von MRP1 .....	34
3.8. Immunzytochemische Charakterisierung von Primärkulturen der Lunge .....	35
3.9. Statistische Auswerteverfahren .....	35
<b>4. Ergebnisse .....</b>	<b>36</b>
4.1. Zellkulturen und Grundexpression der MRP-Proteine.....	36
4.1.1. Primärzellkulturen der Lunge und Patienteninformation.....	36
4.1.2. Die mRNA-Grundexpression verschiedener MRP-Isoformen in humanen Lungenzellen in Kultur.....	45
4.2. Einfluss von Prostaglandin E2 auf humane Lungenzellen.....	48

4.2.1. Vitalitätstest nach Behandlung mit Prostaglandin E2 .....	48
4.2.2. Einfluss von Prostaglandin E2 auf die mRNA-Expression verschiedener MRP-Isoformen .....	49
4.2.3. MRP1-Transportaktivität in humanen Lungenzellen nach Behandlung mit Prostaglandin E2 .....	53
4.2.4. Vorkommen und Lokalisation der Prostaglandin E2 Rezeptoren EP1, EP2, EP3 und EP4 .....	54
4.2.5. Untersuchung der Auswirkungen von Prostaglandin E2 auf die Cadmium-Toxizität in Bronchialepithelzellen.....	60
4.3. Einfluss von Prostaglandin F2 $\alpha$ auf humane Lungenzellen in Kultur .....	61
4.3.1. Vitalitätstest nach Behandlung mit Prostaglandin F2 $\alpha$ .....	61
4.3.2. Einfluss von Prostaglandin F2 $\alpha$ auf die mRNA-Expression verschiedener MRP-Isoformen .....	62
4.3.3. Transportaktivität in Prostaglandin F2 $\alpha$ behandelten Lungenzellen .....	65
4.4. Einfluss des Wachstumsfaktors EGF auf MRP und verschiedene Zellparameter .....	66
4.4.1. Grundexpression des EGFR in Lungengewebe und Primärkultur .....	66
4.4.2. Einfluss von EGF auf die Vitalität humaner Lungenzellen in Kultur.....	67
4.4.3. EGF moduliert den HGF-Rezeptor c-met .....	69
4.4.4. Cadmiumtoxizität und EGF .....	69
4.4.5. Einfluss von EGF auf die mRNA- Expression verschiedener MRP- Isoformen ...	70
<b>5. Diskussion .....</b>	<b>72</b>
5.1. Belastung der Lunge durch umweltbedingte Schadstoffe.....	72
5.2. Chemotherapieresistenzen bei Lungentumoren .....	74
5.3. Einfluss von Prostaglandinen auf die Zellvitalität und die Regulation der Expression von MRP1 und MRP3-MRP5 durch Prostaglandine .....	77
5.4. Prostaglandin E2 und Cadmiumtoxizität.....	84
5.5. Grundexpression der Prostaglandin E2 Rezeptoren in den humanen Lungenzellkulturen .....	87
5.6. EGF: Einfluss auf die Lungenzellkultur und auf die MRP-Expression .....	92
5.6. Vorteile im Umgang mit Primärkulturen zur permanenten Zellkultur.....	94
<b>6. Zusammenfassung.....</b>	<b>96</b>
<b>7. Referenzen.....</b>	<b>98</b>
<b>Anhang .....</b>	<b>111</b>