

Nach Nachwuchswissenschaftler stellen sich vor

2002 IUPAC Prize for Young Chemists

Differentielle Genexpression humaner Makrophagen während der Schaumzellbildung

Stefan Lorkowski,

Institut für Arterioskleroseforschung an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

► Die Atherosklerose ist eine chronisch verlaufende entzündliche Erkrankung, die sich über mehrere Jahre entwickelt. Typische Spätfolgen der Atherosklerose sind Schmerzgefühle in Brust oder Beinen. Im schlimmsten Fall kommt es zum Herzinfarkt, der in etwa 50 Prozent der Fälle tödlich verläuft, oder zum Schlaganfall. Die Folgeerscheinungen der Atherosklerose sind für mehr als 40 Prozent der nichtinfektiösen Todesfälle in den Industrieländern verantwortlich.

Die Schaumzellbildung von Makrophagen ist ein zentraler Prozess der Atherosklerose. Nach einer Verletzung des Endothels wandern Monozyten in die Arterienwand ein und nehmen als Makrophagen un-

kontrolliert modifizierte Lipoproteine geringer Dichte auf. Dies führt zur Akkumulation von Lipidtröpfchen in den Makrophagen, die den Zellen ein schaumartiges Aussehen verleihen.

Da die Kenntnis der molekularen Regulatoren und an der Schaumzellbildung beteiligter Gene von großem Interesse für die Entwicklung antiatherogener Therapien ist, wurde mit Hilfe der *Differential Display RT-PCR* die Genexpression in einem *in vitro*-Modell der Schaumzellbildung analysiert^[1, 2]. Mit Hilfe dieser Technik wurde der ABC-Transporter (ABC = ATP-binding cassette) ABCG1 identifiziert, der während der

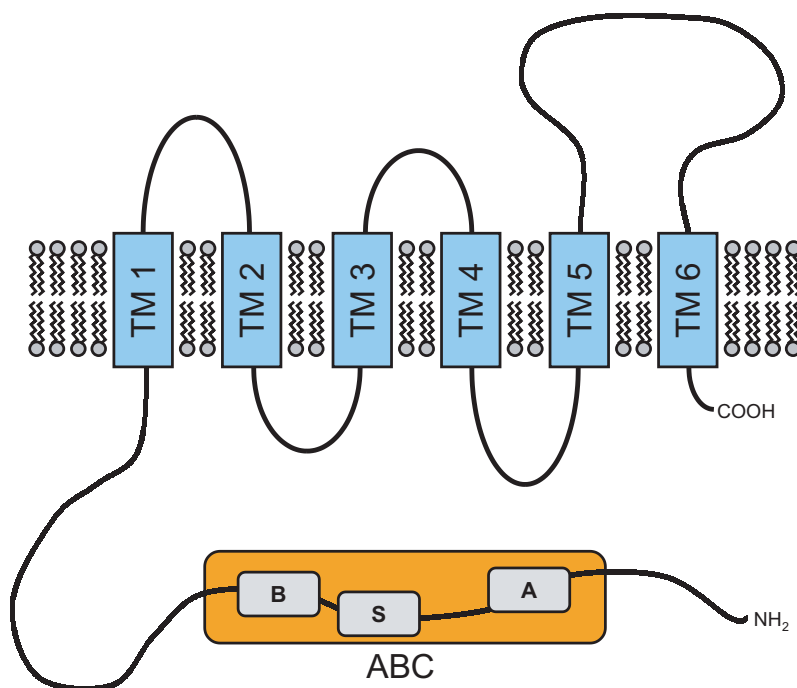


Abb. 1: Anordnung der Domänen im ABCG1-Protein^[1]. Die Struktur des ABCG1-Proteins ist typisch für alle Mitglieder der ABCG-Subfamilie^[2]. ABCG-Proteine sind Halbtransporter und weisen eine ABC-TMD-Anordnung der Domänen auf (ABC = ATP-Bindungskassette; TMD = Transmembrandomäne): Eine große intrazelluläre Domäne, die die ATP-Bindungskassette (bestehend aus den Motiven Walker A (A), Walker B (B), und der ABC-Signatur (S)) enthält, gefolgt von sechs Transmembransegmenten. Der Aminosäureterminus des ABCG1-Proteins variiert möglicherweise aufgrund alternativen Spleißens der ABCG1-mRNA^[5, 7].

►► Schaumzellbildung verstärkt exprimiert wird^[2,3,4].

Die meisten ABC-Proteine sind Membrantransporter, die an der Translokation zahlreicher Substrate durch Membranen beteiligt sind. Die dafür notwendige Energie wird aus der Hydrolyse von ATP gewonnen. Mutationen in ATP-Transportern führen häufig zu schweren Stoffwechselerkrankungen (Sitosterolämie, Tangier-Krankheit, Mukoviszidose, u.a.). ABC-Transporter können auch an der Genese der Atherosklerose beteiligt und Ursache für Störungen des Lipoproteinstoffwechsels sein.

Die Expression von ABCG1 wird durch Oxidationsprodukte des Cholesterins über die Transkriptionsfaktoren LXR und RXR reguliert^[3,4]. Dies führt dazu, dass in Makrophagen von Patienten mit Tangier-Krankheit ABCG1 verstärkt exprimiert wird, da in diesen Zellen Lipide, und damit auch Oxysterole, aufgrund des defekten Lipid-efflux-Mediators ABCA1 akkumulieren^[2]. Untersuchungen mit Peptidantikörpern zeigen eine vornehmlich intrazelluläre Lokalisation von ABCG1. In atherosklerotisch veränderten Arterien findet sich ABCG1 in schaumzelligen Makrophagen der atherosklerotischen Plaque und in Nervenfaserbündeln der Adventitia^[2]. ABCG1 könnte daher eine zentrale Rolle im zellulären Cholesterinstoffwechsel einnehmen. Weitere Arbeiten zeigen, dass durch alternatives Spleißen in Makrophagen mehr als fünf verschiedene Transkripte auftreten, die unterschiedliche Core-Promotoren aufweisen^[5,6,7].

Von Eckardstein *et al.* konnten zeigen, dass sowohl ABCA1 als auch ABCG1 an der Sekretion von Apolipoprotein E (ApoE) beteiligt zu sein scheinen^[8]. Die Beteiligung der beiden ABC-Transporter an der Sekretion von ApoE ist von Interesse, da ApoE der Hauptproteinbestandteil zahlreicher Lipoproteine ist und an der Entfernung dieser Partikel aus dem Blut beteiligt ist. Dadurch senkt ApoE den Lipidspiegel im Blut und wirkt antiatherogen^[9].

In silico-Analysen führten zu Identifizierung eines neuen ABC-Transporters, ABCG4, der eine sehr hohe Homologie zu ABCG1 aufweist^[10]. Dieser Transporter, der auch in Makrophagen zu finden ist, wird in sehr hohem Maße im Gehirn exprimiert. Interessanterweise erstreckt sich die Homologie zwischen ABCG1 und ABCG4 (mehr als 80 Prozent auf Nukleinsäureebene) nicht nur auf die chemische Ebene. Die Expression von ABCG4 wird, wie auch die Expression von ABCG1, durch Oxysterole über die Transkriptionsfaktoren LXR und RXR vermittelt^[9]. Daher könnte ABCG4 eine wichtige Rolle im zerebralen Cholesterinmetabolismus spielen, während ABCG1 seine

Funktion möglicherweise vornehmlich im nichtzerebralen Gewebe übernimmt.

Die vorliegenden Daten weisen darauf hin, dass ABCG1 und ABCG4 interessante Zielgene für die Entwicklung neuer antiatherogener Therapien und Medikamente sein könnten.

Literatur

- [1] **Lorkowski, S., Ellinghaus, P., Galinski, E. A., Assmann, G., Cullen, P.** (2000) Use of longer extension phases to improve yield of high molecular weight products in differential display PCR. *Clin. Chim. Acta.* 299: 199–204.
- [2] **Lorkowski, S., Kratz, M., Wenner, C., Schmidt, R., Weitkamp, B., Fobker, M., Reinhardt, J., Rauterberg, J., Galinski, E. A., Cullen, P.** (2001) Expression of the ATP-binding cassette transporter gene ABCG1 (ABC8) in Tangier disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 283: 821–830.
- [3] **Klücken, J., Buchler, C., Orso, E., Kaminski, W.E., Porsch-Ozcurumez, M., Liebisch, G., Kapinsky, M., Diederich, W., Drobnik, W., Dean, M., Allikmets, R., Schmitz, G.** (2000) ABCG1 (ABC8), the human homolog of the *Drosophila* white gene, is a regulator of macrophage cholesterol and phospholipid transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 817–22.
- [4] **Venkateswaran, A., Repa, J. J., Lobaccaro, J. M., Bronson, A., Mangelsdorf, D. J., Edwards, P. A.** (2000) Human white/murine ABC8 mRNA levels are highly induced in lipid-loaded macrophages. A transcriptional role for specific oxysterols. *J. Biol. Chem.* 275: 14700–14707.
- [5] **Lorkowski, S., Rust, S., Engel, T., Jung, E., Tegelkamp, K., Galinski, E. A., Assmann, G., Cullen, P.** (2001) Genomic sequence and structure of the human ABCG1 (ABC8) gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 280: 121–131.
- [6] **Langmann, T., Porsch-Ozcurumez, M., Unkelbach, U., Klücken, J., Schmitz, G.** (2000) Genomic organization and characterization of the promoter of the human ATP-binding cassette transporter-G1 (ABCG1) gene. *Biochim. Biophys. Acta.* 1494: 175–180.

[7] **Kennedy, M. A., Venkateswaran, A., Tarr, P. T., Xenarios, I., Kudoh, J., Shimizu, N., Edwards, P. A.** (2001) Characterization of the human ABCG1 gene: liver X receptor activates an internal promoter that produces a novel transcript encoding an alternative form of the protein. *J. Biol. Chem.* 276:39438–39447.

[8] **Von Eckardstein, A., Langer, C., Engel, T., Schaukal, I., Cignarella, A., Reinhardt, J., Lorkowski, S., Li, Z., Zhou, X., Cullen, P., Assmann, G.** (2001) ATP binding cassette transporter ABCA1 modulates the secretion of apolipoprotein E from human monocyte-derived macrophages. *FASEB J.* 5: 1555–1561.

[9] **Lorkowski, S., Cullen, P.** (2002) Genetics and molecular biology: Apolipoprotein E – From plasma lipids to plaque stability. *Curr. Opin. Lipidol.* 13: in press.

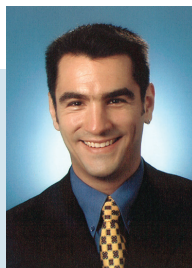
[10] **Engel, T., Lorkowski, S., Lueken, A., Rust, S., Schlüter, B., Berger, G., Cullen, P., Assmann, G.** (2001) The human ABCG4 gene is regulated by oxysterols and retinoids in monocyte-derived macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 288: 483–488.

[11] **Schmitz, G., Langmann, T., Heimerl, S.** (2001) Role of ABCG1 and other ABCG family members in lipid metabolism. *J. Lipid. Res.* 42: 1513–1520.

[12] **Lorkowski, S., Cullen, P.** (2003) The ABCG subfamily of human ATP-binding cassette proteins. *Pure Appl. Chem.* In press.

Korrespondenzadresse:

Dr. Stefan Lorkowski
MAFAPS Research Project
Institut für Arterioskleroseforschung (IFA)
Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Domagkstraße 3
D-48149 Münster
Tel.: 0251/83 – 5 20 72 (Büro)
0251/83 – 5 51 80 (Labor)
Fax: 0251/83 – 5 20 62
stefan.lorkowski@uni-muenster.de
www.mafaps.de



Stefan Lorkowski

geboren 1973, Studium der Chemie und Biochemie an der Westfälischen-Wilhelms-Universität Münster (1992–1997), 2000 Promotion am Institut für Arterio-

skleroseforschung Münster bei Priv.-Doz. Dr. Paul Cullen. 1999 Forschungsaufenthalt Hoffmann-La Roche AG, Basel, Schweiz. Seit 2000 Post-Doktorand am Institut für Arterioskleroseforschung. Forschungsinteressen: Genexpression in Makrophagen und anderen Zellen der arteriellen Gefäßwand, ABC-Transportproteine, Arteriosklerose.