

1. Einleitung

1.1 Entwicklung und Aufbau des Atemtrakts

Der Atemtrakt gliedert sich in die luftleitenden Abschnitte Nasenhöhle, Nasopharynx, Larynx, Trachea, Bronchi, Bronchioli und Bronchioli terminales (Phalen und Oldham, 1983) und in die respiratorischen Abschnitte Bronchioli respiratorii und Alveolarbereich, in denen der Gasaustausch zwischen Atemluft und Blut stattfindet (Staub und Albertine, 1988). Entwicklungsgeschichtlich beginnt die Anlage des Respirationstrakts mit der Abschnürung des ventralen Lungendivertikels vom Vorderdarm in der dritten Embryonalwoche. Das Epithel des Atemtraktes ist somit entodermaler Herkunft.

Die Entwicklung gleicht formal der einer exokrinen Drüse: Aus dem Lungendivertikel wachsen seitlich die beiden Lungenknospen, wobei durch dichotome Teilungen bis zum Ende des sechsten Monats der Bronchialbaum entsteht, der jedoch erst durch weitere nachgeburtliche Teilungen seine endgültige Form erhält. Die Entwicklung des Alveolarraums an den Endverzweigungen des Bronchialbaums setzt ab dem siebten Monat ein. Am Ende des siebten Monats differenzieren sich die einzelnen Alveolarzellen aus (Duncker, 1990).

1.2 Das Bronchialepithel

Das Bronchialepithel kleidet die luftleitenden Abschnitte des Atemtrakts aus. Es wurde traditionell als physikalische Barriere gegenüber schädlichen Umweltfaktoren betrachtet. Als Hauptaufgabe schien in dieser Hinsicht der Schutz vor inhalativen Noxen zu sein. Durch eine Vielzahl jüngerer Untersuchungen musste diese enge Sichtweise revidiert werden. Die Funktionen des Bronchialepithels sind tatsächlich von wesentlich komplexerer Natur: Elektrolyt- und Flüssigkeitstransporte und die mukoziliäre Clearance dienen zur Aufrechterhaltung der pulmonalen Homöostase. Darüber hinaus ist das Bronchialepithel aktiv an der Erregerabwehr und lokalen Regulation der Immunantwort und Entzündungsreaktion beteiligt (Rennard et al., 1991).

Morphologisch ist das Bronchialepithel durch ein mehrreihiges, hochprismatisches Flimmerepithel mit oraler Schlagrichtung der Kinozilien gekennzeichnet. Die basale Begrenzung wird durch eine Basalmembran aus Kollagen Typ IV, Laminin-Entaktin/Nidogen-Komplexen und Proteoglykanen gebildet (Paulsson, 1992).

Der häufigste Zelltyp ist die hochprismatische kinozilientragende Zelle mit ca. 300 Zilien pro Zelle und direktem Anschluss zum Lumen (McDowell und Beals, 1987). Ebenfalls

häufig vorkommend sind die Becherzellen mit polysaccharidhaltigen Schleimtröpfchen im apikalen Bereich und die Bürstensaumzellen, die als unreife Ersatzzellen für zugrunde gegangene Flimmer- und Becherzellen gelten. Sie besitzen einen dichten apikalen Bürstensaum und werden als Zellen mit mechano- oder chemosensitiver Funktion angesehen. Weitere Zelltypen sind Basalzellen ohne Kontakt zum Lumen, neuroendokrine Zellen, dendritische Zellen, Clara-Zellen, vereinzelte Lymphozyten und sensorische Nervenfasern (Söderberg et al., 1988). Die einzelnen Zelltypen sind untereinander über Desmosome und mit der Basalmembran über Hemidesmosome verbunden (Rennard et al., 1994). Die Barrierefunktion der Epithelzellen wird über Tight junctions aufrecht erhalten (Gumbiner, 1987).

1.3 Das Alveolarepithel

Die Alveolen als Endabschnitte des Bronchialbaums sind kleine Aussackungen der Bronchioli respiratorii. Ihr mittlerer Durchmesser beträgt 250 bis 290 μm . Bei einer Anzahl von rund 300 Mio Alveolen errechnet sich eine innere Lungenoberfläche von ca. 70 bis 140 m^2 (Duncker, 1994). Das Alveolarepithel differenziert sich zu 2 Zelltypen, den Alveolarepithelzellen (Pneumozyten) Typ I und Typ II.

1.3.1 Pneumozyten Typ I

Die Pneumozyten Typ I sind zarte, flach ausgezogene Zellen, die den größten Teil der Alveolenoberfläche bekleiden. Sie stellen die eigentlichen Deckzellen des Alveolarepithels dar, wobei sie beim Menschen bei einem geringen Anteil von ca. 8 % aller Zellen der Interalveolarsepten jedoch ca. 95 % der Oberflächenauskleidung ausmachen. Von ihrem Zellkörper, der vergleichsweise wenige Zellorganellen besitzt und in einer Masche des Kapillarnetzes liegt, überziehen Fortsätze mit einem Durchmesser von teilweise nur 0,1 μm die umgebenden Kapillaren. Die Funktion der Typ I-Pneumozyten besteht in der Gewährleistung einer möglichst dünnen Trennfläche zwischen Gefäßsystem und Alveolarraum zur Bildung der Blut-Luft-Schranke, die einerseits eine optimale Gasdiffusion zulässt und andererseits durch Haftkomplexe parazelluläre Transportwege und Wasserverlust verhindert. Als enddifferenzierte Zelle mit fehlender Regenerationsfähigkeit besitzt der Pneumozyt Typ I eine hohe Vulnerabilität (Rennard et al., 1991).

1.3.2 Pneumozyten Typ II

Die auch Nischenzellen genannten Pneumozyten Typ II bedecken ca. 7 % der Alveolaroberfläche. Sie liegen einzeln oder in kleinen Gruppen von 2 bis 3 Zellen „nischenförmig“ zwischen den flachen Pneumozyten Typ I und sind mit ihnen durch Desmosomen und Tight junctions verbunden. Dieser Zelltyp besitzt eine kubische Zellform und kann durch seine charakteristische Vorwölbung in das Alveolarlumen lichtmikroskopisch identifiziert werden (Martínez et al., 1997). Die Zelloberfläche ist an der freien apikalen Seite durch kurze Mikrovilli und dem Fehlen von größeren Zellausläufern gekennzeichnet. Der relativ große Zytoplasmakörper mit vielen Organellen und Einschlusskörpern gab ihnen ursprünglich die Bezeichnung „granulierter“ Alveolarepithelzellen (Schiebler und Schneider, 1991).

Funktionell handelt es sich bei den Pneumozyten Typ II um sezernierende Zellen mit der Fähigkeit zur Proliferation. Die für die Integrität des Alveolarraums unentbehrlichen Funktionen der Pneumozyten Typ II liegen in der Weiterdifferenzierung zu Typ I-Pneumozyten (Adamson und Bowden, 1974) und in der Synthese und Sekretion von oberflächenaktivem Surfactant. Dieser Proteinphospholipidfilm, der als monomolekularer Film das Alveolarlumen auskleidet, setzt die Oberflächenspannung herab und verhindert so den expiratorischen Kollaps der Alveolen (Pattle, 1955, Johansson und Curstedt, 1997, Creuwels et al., 1997).

Darüber hinaus produzieren die Pneumozyten Typ II noch eine Reihe weiterer für das Immunsystem wichtige Proteine und Mediatoren. Hierzu gehören Komplementfaktoren, Wachstumsfaktoren wie die Interleukine 1, 6 und 8, TNF- α (Tumor-Nekrose-Faktor), TGF- β (transforming growth factor), Zytokine wie MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) und GM-CSF (granulocyte/macrophage-colony stimulating factor [Khalil et al., 1991, Strunk et al., 1988, Paine et al., 1993, Driscoll et al., 1996]). Durch ihre hohe Zellstoffwechselaktivität verfügen die Typ II-Pneumozyten über einen sehr gut entwickelten Golgi-Apparat, große Mitochondrien, reichlich rauhes endoplasmatisches Retikulum, freie Ribosomen und multivesikuläre/multilamelläre Körper. Hierbei handelt es sich um die Speicherkapazitäten für das Surfactantsystem (Mason und Crystal, 1998).

1.3.3 Weitere Zellen des Alveolarraums

Weitere Zellen des Alveolarraums sind Bürstenzellen und Alveolarmakrophagen. Bei den Alveolarmakrophagen handelt es sich um Knochenmarksmonozyten, die die periphere Blutbahn und die Kapillaren verlassen haben und aus den Alveolarsepten durch das

Alveolarepithel in das Lumen gewandert sind. Sie zeichnen sich durch Zytoplasmafortsätze und zahlreiche Lysosomen aus und tragen durch ihren Phagozytoseapparat wesentlich zur Selbstreinigung der Lunge bei.

1.4 Transportsysteme des respiratorischen Epithels

Durch die hohe Synthese- und Sekretionsleistung der Typ II-Pneumozyten und ihre wichtige Rolle in Bezug auf die lokale Homöostase besteht ein großer Bedarf an Grundsubstanzen. Um diesem Bedarf nachzukommen, müssen die stoffwechselaktiven Zellen über ausgeprägte Transportkapazitäten verfügen.

Verschiedene Transportsysteme konnten in den letzten Jahren in Typ II-Pneumozyten funktionell nachgewiesen werden. Neben den für den Wasserhaushalt wichtigen Aquaporin-Transportsystemen (Folkesson et al., 1994, Raina et al., 1995) wurden Glukosetransporter (Kemp und Boyd, 1992), Ionentransporter (Ballard und Gatzky, 1991, Bland und Boyd, 1986, Kemp et al., 1994), sowie Transporter für Gluthation (Bai et al., 1994), Cystin und Cystein (Bukowski et al., 1995, Knickelbein et al., 1997), Glutamin (Hautamaki et al., 1992), Cholin (Fisher et al., 1992), Adenosin (Dipak und Steinberg, 1988), Ascorbat (Castranova et al., 1983) und Natrium-Aminosäure-Kotransporter (Brown et al., 1985) charakterisiert. Weitere Studien befassten sich mit dem Aufnahmemechanismus synthetischer Polypeptide (Niven et al., 1990).

Es gibt einige Hinweise für das Vorkommen eines geregelten Oligopeptidtransports im respiratorischen Epithel. In Primärkulturen von Ratten-Typ II-Pneumozyten wurde eine Aufnahme des Dipeptids (L)-Trp-(L)-Tyr gemessen, jedoch konnte aufgrund der schnellen Hydrolyse keine genaue Aussage über den Transportvorgang gemacht werden (Meredith und Boyd, 1993). Demgegenüber konnte ein intakter transepithelialer Transport für das relativ hydrolysestabile Dipeptid (D)-Phe-(L)-Ala in einer luminal-vaskulären Lungenpräparation (Boyd et al., 1993) und in einem Type II-Pneumozyten-Isolat (Meredith und Boyd, 1995) der Rattenlunge nachgewiesen werden. In einer weiteren Studie wurde über die Aufnahme der Dipeptide (L)-Gly-(D)-Phe und (L)-Gly-(L)-Phe in Primärkulturen von Rattenalveolarepithelzellen berichtet (Morimoto et al., 1993). Schließlich konnte auch ein transepithelialer Transport des hydrolyseresistenten Tripeptids (L)-Ala-(D)-Phe-(L)-Ala in der Bürstensaummembran von Ratten-Typ II-Pneumozyten nachgewiesen werden (Helliwell et al., 1994).

Darüber hinaus wurde die Aufnahme des Dipeptids β -Ala-(L)-His (Carnosin) in isolierten Trachealepithelzellen nachgewiesen (Yamashita et al., 1998).

1.5 Oligopeptidtransporter

Epithelzellen aus Niere und Darm besitzen in ihren apikalen und basolateralen Membranen eine Vielzahl von Transportsystemen, die eine ein- und auswärtsgerichtete Substrattranslokation katalysieren.

1.5.1 Peptidtransportvorgänge auf zellulärer Ebene

Der renale Oligopeptidtransporter PEPT2 und seine intestinale Isoform PEPT1 vermitteln den protonengekoppelten Transport von Oligopeptiden aus dem glomerulären Filtrat in die Nierentubulusepithelzellen bzw. aus dem Darmlumen in die Enterozyten (Daniel, 1996). Ihre wesentliche physiologische Funktion liegt in der Gewinnung von extrazellulären Oligopeptiden aus der Peptidhydrolyse zur intrazellulären Bereitstellung von Stickstoff für Proteinbiosynthese und Konservierung von Stickstoffgruppen (Daniel, 1997).

Als treibende Kraft des Substrattransports in die Zelle dient ein Protonengradient, der durch die Aktivität des $\text{Na}^+\text{-H}^+$ -Antiporters aufrecht erhalten wird (Temple et al., 1995). Der apikale Einstrom der Na^+ -Ionen in die Zelle kann dabei in den Tubulusepithelzellen und Enterozyten von der ATP-abhängigen Na^+/K^+ -ATPase in der basalen Membran kompensiert werden. Dadurch sind PEPT2 und PEPT1 als tertiär aktive Transportsysteme charakterisiert (Daniel und Herget, 1997, Abb. 1).

1.5.2 Einordnung der Transportprozesse

Die Oligopeptidtransporter PEPT2 und PEPT1 werden zusammen mit verschiedenen strukturell homologen Peptidtransportern aus Hefen (Ptr2, Ptr3, *Saccaromyces cerevisiae*), höheren Pflanzen, Pilzen (CaPtr2p, *Canidida albicans*) und Bakterien (DtpT, *Lactococcus lactis*) zur Familie der protonenabhängigen Peptidtransporter (Ptr) gerechnet (Steiner et al., 1995). Diese Familie ist eine Untergruppe der Familie der Protonen-Oligopeptid-Transporter (POT [Paulsen und Skurray, 1994]). Gemeinsam ist diesen Transportern die Abhängigkeit von einem Protonengradienten als treibende Kraft der Substrattranslokation.

Da der Transport von organischen Substanzen bei Säugetieren in eine Zelle in der Regel Na^+ -abhängig und bei den Mikroorganismen protonenabhängig verläuft, kann man die protonenabhängigen Peptidtransporter PEPT1 und PEPT2 der Säugetiere als phylogenetische Bindeglieder zwischen beiden Prinzipien sehen (Fei et al., 1994, Leibach und Ganapathy, 1996).

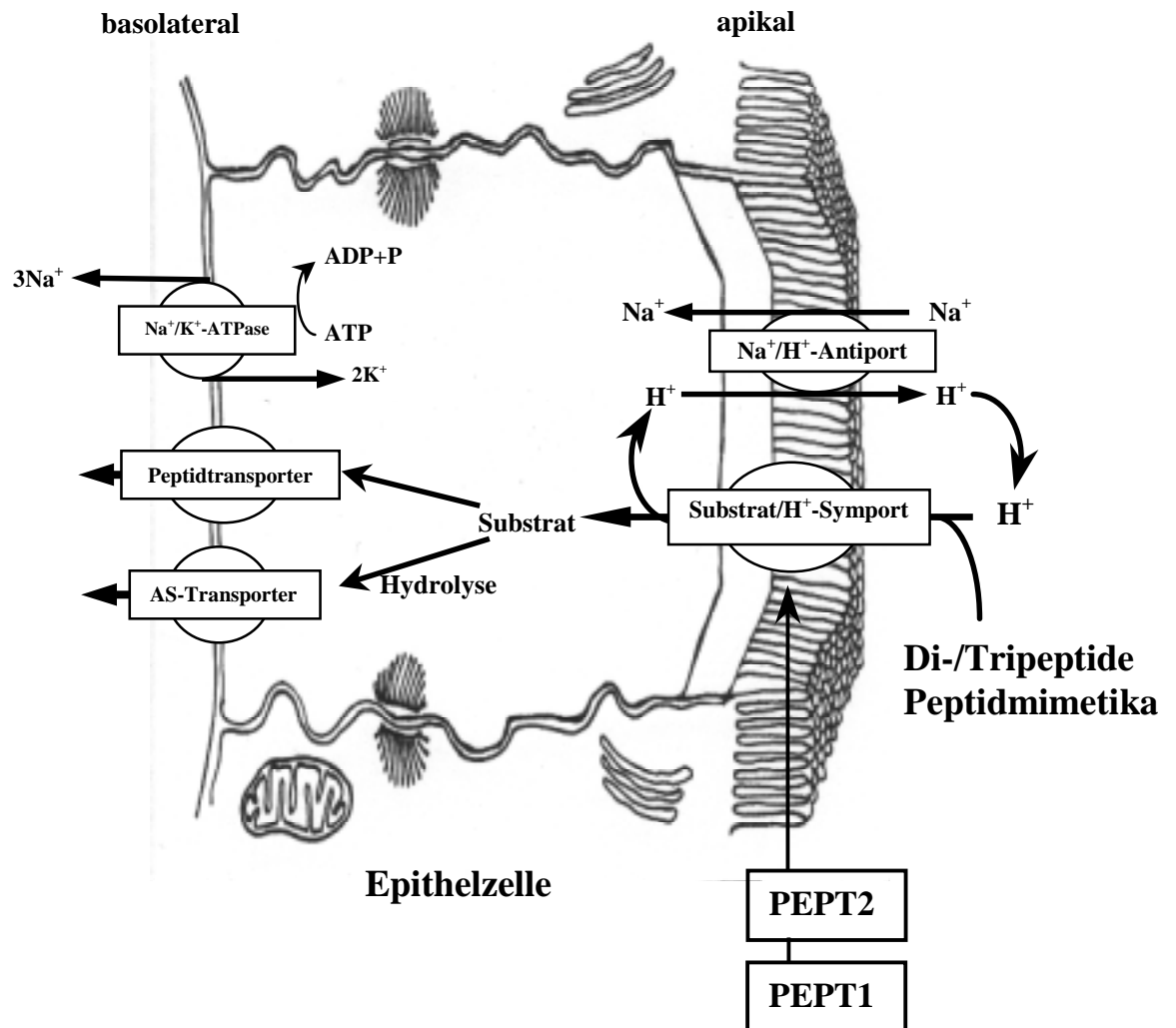


Abbildung 1: Peptidtransport auf zellulärer Ebene. Der renale Oligopeptidtransporter PEPT2 und seine intestinale Isoform PEPT1 vermitteln den Transport von Oligopeptiden und Peptidmimetika in Epithelzellen durch Kopplung der Substrattranslokation an einen Protonengradienten.

1.5.3 Substrate

1.5.3.1 Oligopeptide

Der Oligopeptidtransport umfasst Di- (Daniel, 1993) und Tripeptide (Tiruppathi et al., 1990a, 1990b, 1990c, 1991). Singuläre Aminosäuren und Peptide mit einer Kettenlänge über 3 Aminosäuren werden nicht als Substrat akzeptiert. Theoretisch können alle Di- und Tripeptide als Substrate von PEPT1 und PEPT2 erkannt werden (Abb. 2). Daher kommen von den 20 proteinogenen (L)-Aminosäuren ausgehend, 400 Di- und 8000 Tripeptide in Betracht. Berücksichtigt man darüber hinaus D-Aminosäuren, so steigt die Anzahl auf 57200. Unter Berücksichtigung von Fremdstoffen steigt die Zahl auf ca. 10^6 potentielle Substrate.

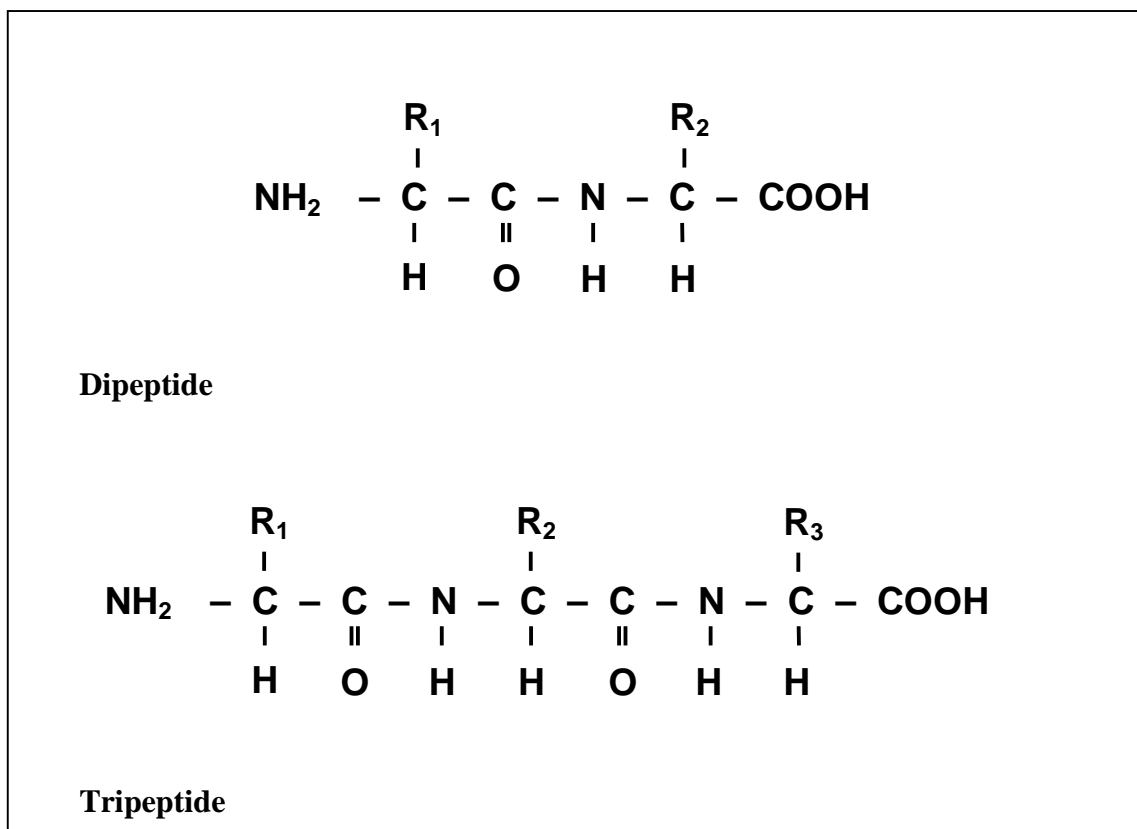


Abbildung 2: Oligopeptide als Substrate von PEPT2 und PEPT1. R_1 - R_3 = Reste

1.5.3.2 Betalaktamantibiotika

Zusätzlich zu den körpereigenen Di- und Tripeptiden konnte in den letzten Jahren eine Reihe von Betalaktamantibiotika wie z. B. Cefadroxil als Substrate für PEPT2 (Inui et al., 1984; Daniel und Adibi, 1993; Naasani et al., 1995; Tamai et al., 1997, Takahashi et al., 1998,) und PEPT1 (Inui et al., 1988, Wenzel et al., 1995, Bretschneider et al., 1999) charakterisiert werden (Abb. 3). Bei der Erkennung von Betalaktamantibiotika als Substrate scheinen Histidinreste von PEPT1 und PEPT2 mit der Aminogruppe dieser Substanzklasse zu interagieren (Terada et al., 1998).

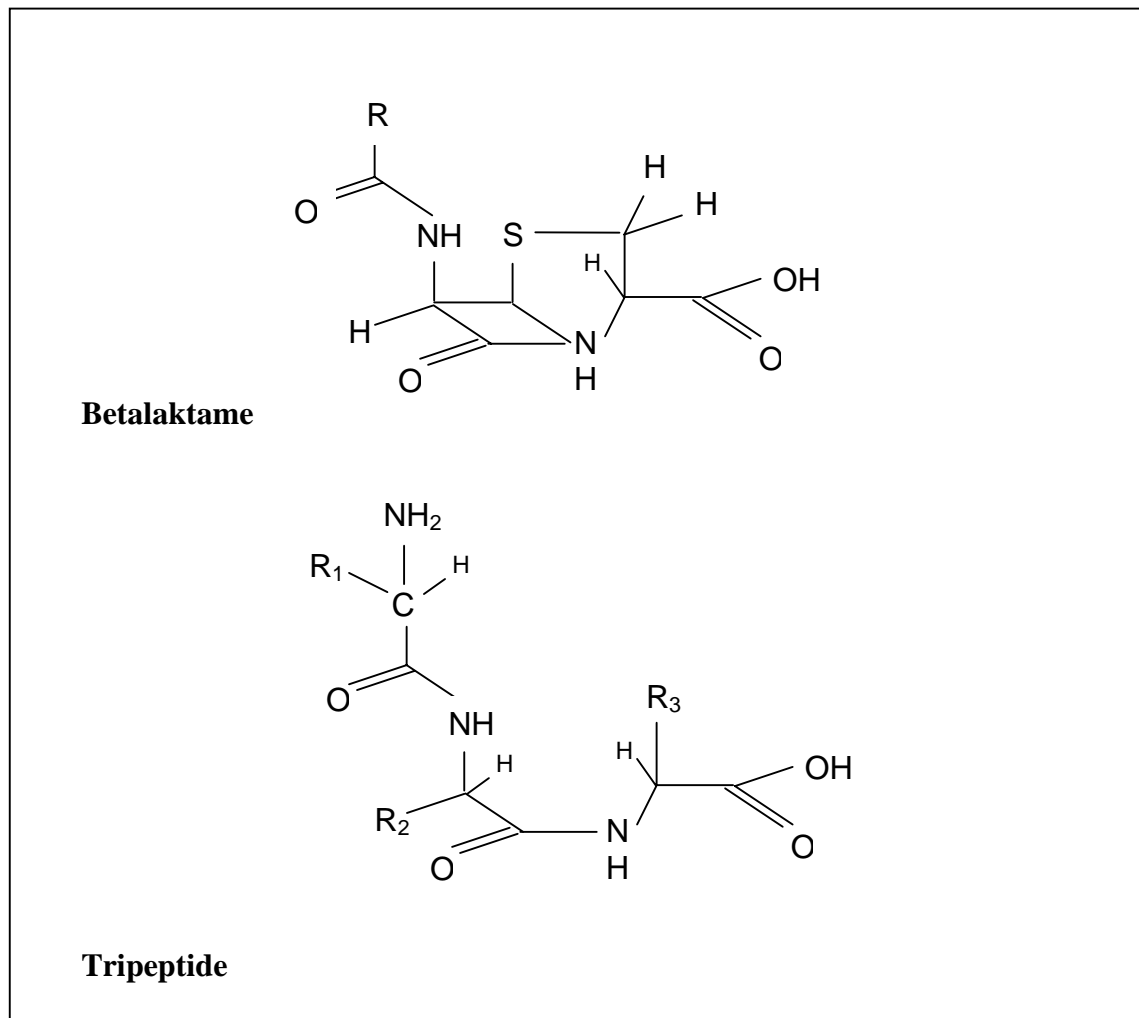


Abbildung 3: Strukturhomologie von Betalaktamen und Tripeptiden.

1.5.3.3 Weitere Substrate

Neben den Betalaktamen konnten weitere Peptidmimetika wie Angiotensin-Converting-Enzyme-Inhibitoren (Akarawut et al., 1999, Lin et al., 1999), Virustatika (Ganapathy et al., 1998, Balimane et al., 1998, Amidon et al., 1999, Guo et al., 1999) und Antimetabolite wie Bestatin (Inui et al., 1992) als Substrate identifiziert werden. Darüber hinaus zählt die endogene Delta-Aminolävulinsäure (δ -ALA [Döring et al., 1998] Abb. 4) zu den Substraten. Das hochaffine Transportsystem PEPT2 bevorzugt Di- und Tripeptide und Peptidmimetika mit einer α -Aminogruppe und akzeptiert keine Angiotensin-Converting-Enzyme-Inhibitoren (Daniel et al., 1992, Temple und Boyd, 1998).

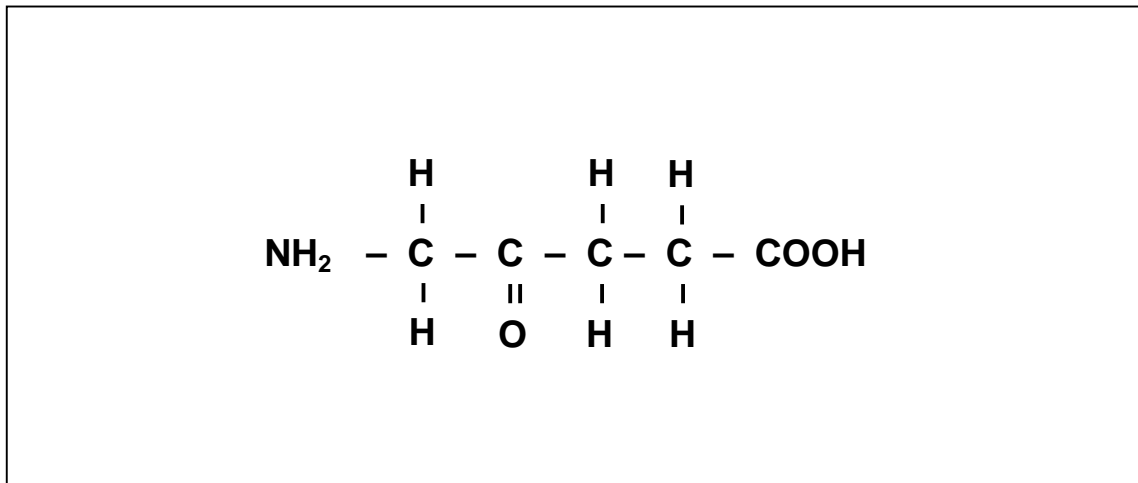


Abbildung 4: Struktur der Delta-Aminolävulinsäure.

Im Rahmen neuerer Studien zur Substraterkennung der beiden Oligopeptidtransporter konnte gezeigt werden, dass eine Peptidbindung innerhalb des Substratmoleküls keine Voraussetzung des Transportes ist (Döring et al., 1998a, 1998b, Ganapathy et al., 1998, Temple et al., 1998), sondern lediglich als Minimalanforderung eine Kettenlänge von mindestens 4 C-Atomen zwischen Carboxy- und Aminoterminus gilt (Döring et al., 1998a, 1998b, Abb. 4). Auch konnten durch Transportstudien an Chimären aus PEPT1 und PEPT2 phenotypische Merkmale (Döring et al., 1996) und mögliche Substratbindungsstellen im Bereich der Transmembrandomänen 7, 8 und 9 charakterisiert werden (Fei et al., 1998).

1.5.4 Molekulare Ebene des Peptidtransports

1.5.4.1 Der renale Peptidtransporter PEPT2

Die Funktion des hochaffinen renalen Peptidtransporters PEPT2 liegt in der Rückresorption von Di- und Tripeptiden aus dem glomerulären Filtrat und der damit verbundenen Rückgewinnung von Stickstoffgruppen aus dem Primärharn.

PEPT2-cDNA konnte bisher aus der Niere von Mensch (Liu et al., 1995), Kaninchen (Boll et al., 1996) und Ratte (Saito et al., 1996) sowie dem ZNS der Ratte (Wang et al., 1998) kloniert werden.

Die cDNA des Peptidtransporters PEPT2 der Ratte besitzt einen offenen Leserahmen von 2190 bp und codiert für ein Protein aus 729 Aminosäuren, das über 12 putative transmembranäre Domänen mit einer Molekülmasse von ungefähr 81 kDa (Saito et al., 1996) verfügt.

Bei einer 48 %igen Homologie in der Aminosäuresequenz von PEPT2 der Ratte zu PEPT1 der Ratte liegt die geringste Homologie in der extrazellulären hydrophilen Schleife zwischen der neunten und zehnten transmembranären Domäne (Saito et al., 1996). Die Homologie zwischen Ratten- und Menschen PEPT2 beträgt 83 %.

Mittels Northern-Blot konnte man bisher PEPT2-mRNA Expression in Organen wie Niere, Gehirn, Lunge, Leber, Herz, Milz und Niere verschiedener Spezies nachweisen (Liu et al., 1995, Boll et al., 1996, Saito et al., 1996). Histologisch wurde PEPT2-mRNA mittels Mikrodisektions-PCR und In-situ-Hybridisierung im proximalen Tubulus in der Ratteniere (Smith et al., 1998, Shen et al., 1999), sowie in Gliazellen des Ratten-ZNS (Dringen et al., 1998, Tom Dieck et al., 1999, Berger und Hediger, 1999) lokalisiert. Zur genaueren funktionellen Charakterisierung des Transportsystems wurde PEPT2 in Zelllinien aus dem proximalen Tubulus (Brandsch et al., 1995, Wenzel et al., 1998, 1999) und in Expressionssystemen wie *Xenopus laevis* Oozyten (Amasheh et al., 1997) untersucht, wobei anhand elektrophysiologischer Messungen und Kinetikuntersuchungen einzelne Substrate sowie deren Aufnahmekinetik charakterisiert wurden. Hierbei konnte bei PEPT2 im Vergleich zu PEPT1 bei einer höheren Substrataffinität eine geringere Transportkapazität nachgewiesen werden. Der elektrogene Substrattransport durch PEPT2 ist sättigbar und wird von pH-Wert sowie Membranpotential beeinflusst (Daniel et al., 1991, 1992).

1.5.4.2 Der intestinale Peptidtransporter PEPT1

Die enterale Funktion des intestinalen Peptidtransporters PEPT1 ist die Resorption von Di- und Tripeptiden aus der Darmflüssigkeit zur Bereitstellung von Stickstoffgruppen und Aminosäuren für den Organismus. Bisher konnte man PEPT1 aus dem Dünndarm von Kaninchen (Fei et al., 1994, Boll et al., 1995), Mensch (Liang et al., 1995) und Ratte (Saito et al., 1995, Miyamoto et al., 1996) klonieren. Die PEPT1-cDNA des Kaninchens besitzt einen offenen Leserahmen von 2124 bp und codiert für ein Protein aus 707 Aminosäuren mit 12 putativen transmembranären Domänen (Boll et al., 1995)

Histologisch konnte PEPT1-mRNA durch In-situ-Hybridisierung im Dünndarm des Kaninchens lokalisiert werden (Freeman et al., 1995), sowie PEPT1-Immunreaktivität durch Immunhistochemie an der apikalen Membran der Enterozyten (Ogihara et al., 1996, 1999).

Durch Expressionsstudien von PEPT1 in Caco-2 Zellen (Wenzel et al., 1996, Terada et al., 1999), CHO-Zellen (Han et al., 1999), HeLa-Zellen (MacKenzie et al., 1996), LLC-PK 1-Zellen (Terada et al., 1997, Wenzel et al., 1998), *Xenopus laevis* Oozyten (Amasheh et al., 1997) und *Pichia pastoris* (Döring et al., 1997, 1998c) konnte die Kinetik des Transports charakterisiert werden. Im Gegensatz zu PEPT2 hat PEPT1 eine niedrigere Substrataffinität und eine höhere Transportkapazität, die unter anderem von einem pH-abhängigen Regulationsfaktor (hPEPT1-RF) beeinflusst wird (Saito et al., 1997). Es konnte nachgewiesen werden, dass die vermehrte enterale Zufuhr von Peptiden eine von hormoneller oder neuronaler Kontrolle unabhängig gesteigerte Expression von hPEPT1 zur Folge hat (Walker et al., 1998). Eine Darmmukosaverletzung beeinflusst den intestinalen Peptidtransport nur gering, was auf eine gesteigerte PEPT1-Expression zurückgeführt wird (Tanaka et al., 1998). Neben Oligopeptiden werden verschiedene Peptidpharmaka von PEPT1 als Substrat erkannt (s. 1.6.3).

<i>Transporter</i>	<i>cDNA</i>	<i>Protein</i>	<i>Topologie</i>
Human PEPT1 (Human intestinal peptide transporter)	Ca. 3.1 kb (2127 bp)	708 AS, ca. 79 kDA pI = ca. 8.58	12 TM N-Glykosylierung: N50, N404, N408, N409, N509, N514, N562
Rat PEPT1 (Rat intestinal peptide transporter)	Ca. 3.0 kb (2133 bp)	710 AS, ca. 79 kDA pI = ca. 7.39	12 TM N-Glykosylierung: N415, N439, N510, N532, N539
Rabbit PEPT1 (Rabbit intestinal peptide transporter)	Ca. 2.7 kb (2124 bp)	707 AS, ca. 79 kDA pI = ca. 7.47	12 TM N-Glykosylierung: N50, N439, N513
HPEPT2 (Human kidney peptide transporter)	Ca. 2.7 kb (2190 bp)	729 AS, ca. 82 kDA pI = ca. 8.26	12 TM N-Glykosylierung: N435, N472, N528
Rat PEPT2 (Rat intestinal kidney transporter)	Ca. 3.9 kb (2190 bp)	729 AS, ca. 81 kDA pI = ca. 7.99	12 TM N-Glykosylierung: N435, N448, N528, N587
Rabbit PEPT2 (Rabbit kidney peptide transporter)	Ca. 4.2 kb (2190 bp)	729 AS, ca. 82 kDA pI = ca. 7.39	12 TM N-Glykosylierung: N435, N472, N508, N528, N587

Tabelle 3: Molekulare Merkmale der Oligopeptidtransporter PEPT1 und PEPT2

1.6 Mukoviszidose

Die Mukoviszidose (CF, Synonym: zystische Fibrose) ist die häufigste autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung. Von 2000 bis 3000 Neugeborenen leidet ein Kind an der Erkrankung. Jährlich werden in der Bundesrepublik ca. 325 Kinder mit CF geboren. Die Prognose war noch vor 20 Jahren so ungünstig, dass 85 bis 90 % der Patienten im Kindesalter verstarben. Bei einer Lebenserwartung von ca. 20 Jahren (Elborn et al., 1991) liegt die Prävalenz bei ca. 6500 Patienten in der BRD (Falbel und Smaczny, 1993). Pathogenetisch handelt es sich um eine Mutation am CF-Locus auf dem Chromosom 7 mit einer Veränderung des CF-Transmembran Regulators (CFTR) (McPherson und Goodchild, 1988, Riordan et al., 1989, Kubesch et al., 1993). Die Erkrankung verläuft unter Beteiligung aller exogenen Drüsen in Lunge und Bronchialbaum, Nasennebenhöhlen, Pankreas, Cervix uteri, Nebenhoden und Gallenwegen und bedingt eine erhöhte Viskosität der Sekrete. Im Vordergrund der Erkrankung stehen Lunge und Atemwege, wobei bereits in den ersten Lebenswochen eine Hyperplasie der Becherzellen und Hypertrophie der mukösen Drüsen zu Retention von zähem Schleim, Atelektasen, Bronchiektasen, Obstruktion und chronischer Bronchitis führen. Trotz großer Fortschritte im Bereich der Antibiotikatherapie spielen bakterielle Infektionen der Lunge und Atemwege eine wesentliche Rolle bei der Progredienz der Erkrankung und führen über eine schrittweise Zerstörung des Lungengewebes zu respiratorischer Insuffizienz. So bilden pulmonale Komplikationen die Hauptmortalitätsursache im Kindes- und Erwachsenenalter.

1.7 Ziel der Arbeit

Insgesamt ist der Wissensstand über molekulare und funktionelle Eigenschaften der Peptidtransporter in den Organen Darm und Niere sehr detailliert. Darüber hinaus gibt es profunde Kenntnisse über die subzelluläre Lokalisation der Proteine in der Zellmembran. Demgegenüber gibt es nur wenige Studien über definierte Oligopeptidtransportsysteme in der Lunge. Man konnte bisher anhand einiger Aufnahmestudien Hinweise für das Vorliegen eines Transports von Di- und Tripeptiden in Typ II-Pneumozyten-Kulturen und Trachealepithelzellkulturen finden. Auch konnte durch Northern-Blot eine Expression von PEPT2 nicht aber PEPT1 in der Rattenlunge nachgewiesen werden. Hingegen ist über die genaue Lokalisation auf histologischer und zytologischer Ebene nur wenig bekannt und der Nachweis des Proteins in der Lunge bisher noch nicht gelungen. Für ein Verständnis der genauen Transportvorgänge ist jedoch die Kenntnis über die zelluläre Lokalisation unerlässlich. Aus diesen Vorbefunden ergibt sich folgende Zielsetzung (Abb. 6):

Nachweis der Synthese- und Wirkorte des Peptidtransporters PEPT2 innerhalb des Atemtrakts auf transkriptioneller und translationaler Ebene durch physiologische, histologische und molekularbiologische Methoden.

I.

Nachweis der Expression von PEPT2-mRNA in Lungenextrakten durch verschiedene Nachweissysteme (RT-PCR und Northern-Blot).

II.

Lokalisation der PEPT2-mRNA Expression in der Rattenlunge mittels nonradioaktiver In-situ-Hybridisierung.

III.

Lokalisation der PEPT2-Immunreaktivität durch Immunhistochemie

- in gesunden tierischen
- und gesunden humanen Lungengeweben.

IV.

Neben der Expression in normalen Lungengeweben sollen insbesondere Mukoviszidosegewebe untersucht werden, um so eine Aussage bezüglich einer Rolle des antibiotika-transportierenden Transportsystems bei der Hauptindikation der aerosolischen Antibiotikatherapie, den rekurrenten Atemwegsinfektionen bei Mukoviszidose zu machen.

V.

Schließlich soll mittels Ex-vivo-Aufnahmestudien eine Lokalisation des funktionellen Transportes von PEPT2-Substraten an verschiedenen Geweben erfolgen.

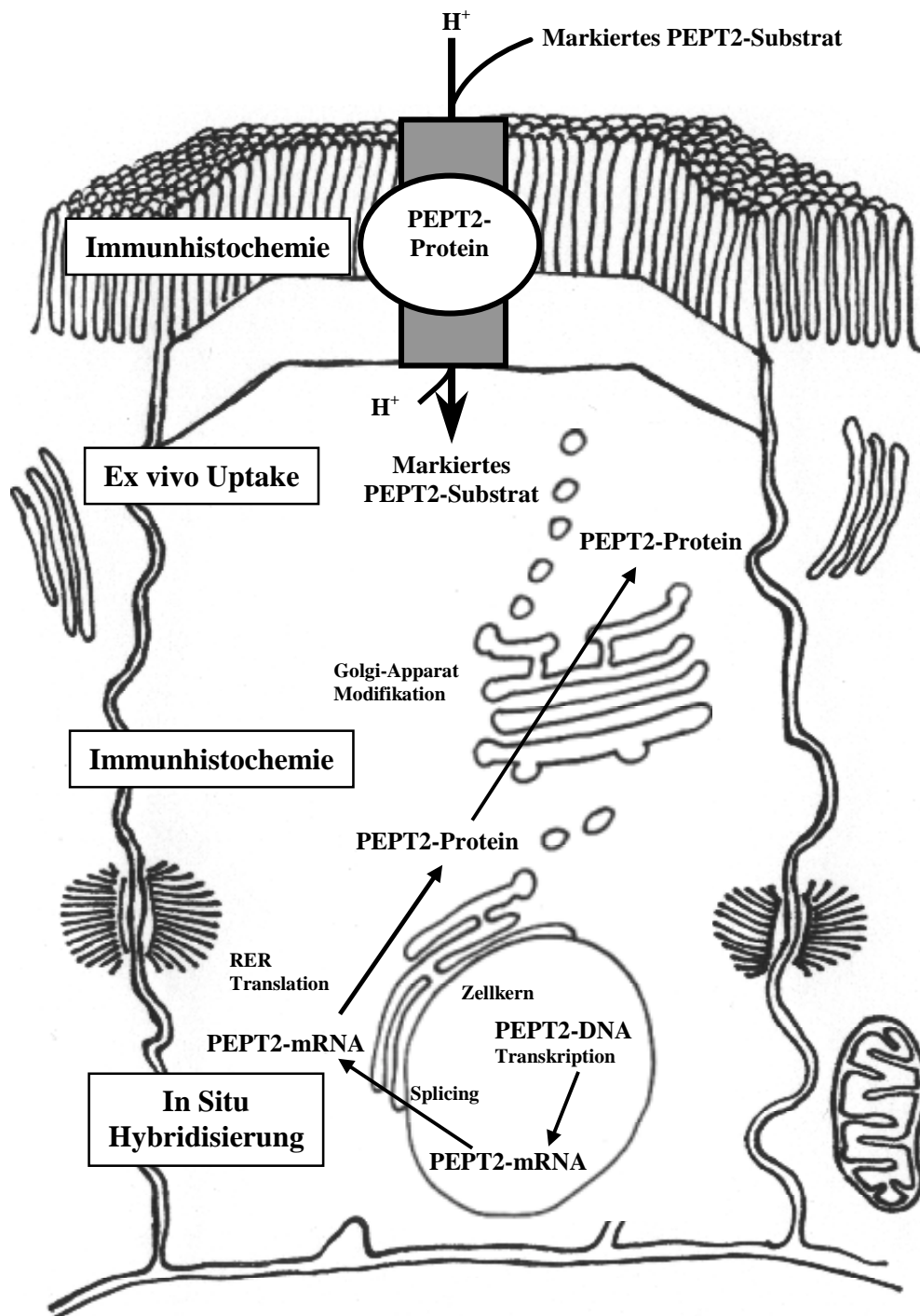


Abbildung 6: Nachweismethoden der Lokalisation.