

Stressproteine: Ihre wachsende Bedeutung in der Medizin

Franco Fracella, Ludger Rensing

Institut für Zellbiologie,
Biochemie und Biotechnologie der Universität, D-
28334 Bremen

In response to a variety of "emergencies", cells produce several stress proteins (heat shock proteins, HSP) that provide them with higher resistance and are able to repair protein damage. Their expression is regulated by heat shock transcription factors. Stress proteins are arousing growing interest in medicine, as major antigens in some infections and certain autoimmune diseases and also because of their possible involvement in the development and therapy of cancer. Elevated levels of stress proteins protect tissues and organs against ischemic injury and reduce infarct size. Stress proteins may also serve as a marker in diagnostic studies and in toxicology.

Die Rolle der "Stressproteine" bei einer Reihe von Krankheiten und in der Immunologie findet wachsendes Interesse. Stressproteine sind Hauptantigene bei Infektionen und einigen Autoimmunerkrankungen und bei der Krebsentstehung und Therapie von großer Bedeutung. Bei Infarkten findet man erhöhte Mengen an Stressproteinen im Herzmuskel, die vorübergehend gegen einen erneuten Infarkt resistenter machen. Die zelluläre Stressantwort könnte auch als Indikatorsystem bei vielen klinische Fragestellungen, als Diagnosehilfe und in der Toxikologie eingesetzt werden. Weitere Schwerpunkte der Forschung sind die Regulation der Expression von Stressgenen, an der zum Teil auch das endokrine System beteiligt zu sein scheint, sowie Struktur und Funktion der Stressproteine als sog. "molekulare Chaperone".

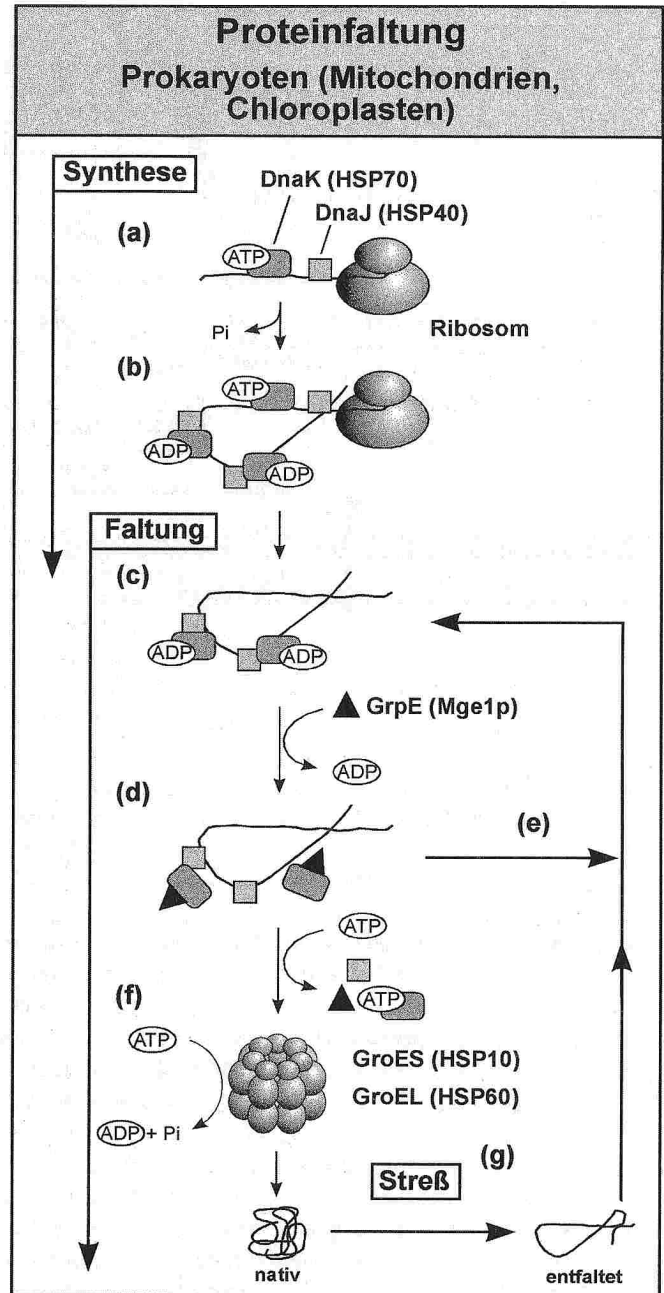
Als Stressproteine werden mehrere Gruppen von Proteinen bezeichnet, die bekannteste Gruppe sind die Hitzeschockproteine (HSP). Die Proteine dieser Gruppe unterscheidet man nach ihrem Molekulargewicht in Kilodalton, z. B. HSP 60, 70, 90 usw. Sie sind phylogenetisch hochkonserviert und universell bei allen Organismen zu finden. Ihre Expression ist der wichtigste Bestandteil der zellulären Antwort auf unterschiedliche Belastungen [1]. Sie werden aber auch konstitutiv, d. h. unter "normalen" Bedingungen exprimiert, jedoch unterschiedlich stark bei Differenzierungs- und Entwicklungsvorgängen.

Stressproteine als molekulare Chaperone

Viele Stressproteine und konstitutiv gebildete verwandte Proteine sind für die korrekte Faltung, Zusammenlagerung, Stabilisierung, den Transport sowie den Abbau von Proteinen essentiell. Sie erfüllen Schutzfunktionen und wirken somit einer Schädigung der Zellen entgegen. Aufgrund dieser Funktion werden sie

als molekulare Chaperone (Gouvernanten) bezeichnet. Sehr hohe intrazelluläre Proteinkonzentrationen können über hydrophobe Wechselwirkungen zu unerwünschten Aggregationen führen. Diese Proteinaggregationen werden durch unterschiedliche Belastungen, z. B. erhöhte Temperaturen, verstärkt. Streßproteine können die Tendenz zur Aggregation vorhandener und neugebildeter Proteine verringern, indem sie an hydrophobe Teile der Proteine binden und so deren korrekte Faltung aufrechterhalten oder erst ermöglichen (HSP70/60). Bereits aggregierte oder denaturierte Proteine werden wieder dissoziiert oder der lysosomalen Degradation zugeführt (HSP70). HSP70 ist außerdem am Transport intakter Proteine in den Zellkern und andere Kompartimente beteiligt, wobei die zu transportierenden Proteine partiell entfaltet werden [2].

Aus den Arbeiten der letzten Jahre ergibt sich die wichtige Erkenntnis, daß die Hauptchaperone (HSP60 und HSP70) nur in Kooperation mit Helferproteinen, den sog. "cohort"-Proteinen, ihre Aufgabe effizient erfüllen (Fig. 1). Wegen dieser Kooperation mehrerer Komponenten spricht man zunehmend von "Chaperon-Maschinen". HSP60 befindet sich in Mitochondrien und Chloroplasten und bildet zwei Ringe aus je 7 identischen Untereinheiten, an die sich Helferproteine (HSP10) anlagern. Ein entsprechender Komplex wurde kürzlich auch im Cytoplasma entdeckt. Dieser sog. TCP-1-Komplex besteht aus zwei Ringen mit je bis zu 9 verschiedenen Untereinheiten. Mitglieder der HSP70-Genfamilie sind die wichtigsten Chaperone in der Zelle. Sie kommen im Cytoplasma, in Mitochondrien und Chloroplasten, im ER und im Zellkern vor. Sie kooperieren spezifisch mit einem kleineren Protein (HSP40), sind aber auch an vielen anderen Kooperationen zum Zwecke der Faltung, der Translokation und des Abbaus von Proteinen beteiligt [3]. Während die Hauptchaperon-Maschinen nur unter Verbrauch von ATP arbeiten, scheinen die "Junior"-Chaperone (HSP25) ihre Funktion ohne ATP erfüllen zu können [4]. Durch Streß, einige Wachstumsfaktoren, Cytokine usw. wird HSP25 phosphoryliert und bildet unter nativen Bedingungen hochmolekulare rotationssymmetrische Komplexe (bis zu 4 gestapelte Ringe aus je 8 identischen Untereinheiten; Behlke, pers. Mitt.).



c) DnaK, DnaJ und das ungefaltete Peptid bilden einen stabilen Komplex; d) mit Hilfe von GrpE wird ADP von DnaK abdissoziiert; e) durch ATP-Bindung an DnaK wird das ungefaltete Protein entlassen und erlangt entweder sofort seinen nativen Zustand, wird erneut von DnaJ und DnaK gebunden (e) oder zur vollständigen Faltung an GroEL/ES weitergegeben (f). Durch Streßbedingungen entfaltete Proteine (g) werden von DnaJ und DnaK gebunden und durchlaufen einen ähnlichen Faltungsprozeß wie neugebildete Proteine (g-c-d-e bzw. g-c-d-f). Im Cytoplasma eukaryotischer Zellen laufen vermutlich sehr ähnliche Faltungsmechanismen ab. Für viele prokaryotische Chaperone wurden schon homologe Proteine identifiziert. Bei Eukaryoten kann cytoplasmatisches HSP70 außer der Renaturierung streßbedingt entfalteter Proteine auch deren lysosomale Degradation veranlassen. HSP70 scheint auch an der Präsentation von prozessierten Proteinen beteiligt zu sein.

Fig. 1. Modell der Chaperon-abhängigen Faltung neugebildeter (a-elf) und streßbedingt entfalteter (g, c, d, elf) Proteine im Cytoplasma prokaryotischer Zellen und in der Matrix von Mitochondrien oder Chloroplasten (c-elf) (verändert nach [3]). a) DnaJ und DnaK assoziieren mit der am Ribosom neugebildeten Peptidkette; b) durch die Interaktion mit DnaJ wird DnaK im ADP-gebundenen Zustand stabilisiert;

Regulation der Streßgenexpression bei höheren Eukaryoten

Die schnelle, vorübergehende Induktion der Synthese von Streßproteinen in Streßsituationen wird hauptsächlich von einem spezifischen Hitzeschocktranskriptionsfaktor (HSF1) kontrolliert. Der konstitutiv exprimierte HSF1 liegt in ungestreßten Säugerzellen in einer inaktiven monomeren Form vor. Als Folge von Streß bildet der HSF1 Trimere und akkumuliert im Zellkern. HSF1 bindet dann an spezifische Hitzeschockelemente im Promoter der Streßgene und initiiert deren Transkription. Die Rolle einer Phosphorylierung des HSF1 ist noch unklar; sie könnte sowohl zur Aktivierung [2] als auch Desaktivierung [5] beitragen. Wichtig war auch die Entdeckung weiterer HSF. HSF2 wird nicht durch Streß aktiviert und ist für eine entwicklungs abhängige HSP-Synthese verantwortlich. HSF3 ist Zelltyp-spezifisch und wird wie HSF1 durch Streß -aber mit verzögerter Kinetik -aktiviert. Alle HSF werden negativ reguliert, d. h. sie werden "normalerweise" gehemmt -HSF1 wahrscheinlich durch die Bindung von HSP70 selbst -und nur bei Streß aktiviert. Die Aktivierung von HSF führt nicht immer und nicht in allen Geweben gleichermaßen zur HSP-Synthese. Beispielsweise zeigen einige neuronale Zelltypen eine abgeschwächte Streßantwort bei voll aktiviertem HSF1, was möglicherweise der Grund für eine höhere Empfindlichkeit neuronaler Zellen gegenüber Ischämie und starkem Fieber ist [2].

Streßproteine aus medizinischer Sicht

Wegen der vielfältigen Bedeutung der HSP als molekulare Chaperone ist es nicht verwunderlich, daß sich die Expression von Streßproteinen bei bestimmten pathologischen Zuständen und verschiedenen Krankheiten wie Ischämie, Sauerstoffschädigung, Hypertrophie, Fieber, Entzündungen, Infektionen, Zell- und Gewebetrauma sowie beim Alterungsprozeß ändert. Erhöhte Antikörpertiter gegen bakterielle und zelluläre HSP sind bei verschiedenen Infektions- und einigen Autoimmunkrankheiten, z. B. bei rheumatoider und Adjuvans-induzierter Arthritis und insulinabhängigem Diabetes, beobachtet worden [6-8]. Eine allgemeine Komponente vieler Infektionen und Gewebeschädigungen ist eine Entzündungsreaktion. Daher liegt die Frage nahe, ob die Streßantwort direkt oder indirekt mit der Entzündungsreaktion gekoppelt ist. An der Auslösung von Entzündungsreaktionen sind Arachidonsäure-Derivate beteiligt, sie führen über HSF1-Aktivierung auch zu einer erhöhten HSP

Synthese. Interessanterweise wird durch Vorbehandlung von Zellen mit Arachidonsäure-Derivaten oder Inhibitoren des Arachidonsäure-Stoffwechsels, wie Salicylat und Indomethacin, die relativ hohe Temperaturschwelle (42 ° C) der HSF1-Aktivierung auf 38-40°C herabgesetzt, eine bei Entzündungen und Fieber häufige Temperatur [2, 9].

Streßproteine in Immunologie und Autoimmunologie

Obwohl stark konservierte Proteine eigentlich schlechte Immunogene sind, bilden viele HSP (vornehmlich solche aus den HSP60- und HSP70-Familien) wirksame Ziele für Antikörper und T-Zellen bei Bakterien-, Virus-, Protozoen- und Wurminfektionen (Tabelle 1) sowie bei einigen antimikrobiellen Impfungen. HSP60 gehört zur Gruppe der "common antigens". Verschiedene Infektionen lassen sich durch das Auftreten bestimmter Anti-HSP-Antikörper gut diagnostizieren. Die mikrobielle Invasion eines Wirtsorganismus bedeutet sowohl für die Mikroben als auch für die Zellen des Wirtsorganismus Streß. Infolgedessen werden von beiden Streßproteine gebildet. Mikrobielle HSP sind als Immunogene für das Immunsystem attraktiv, da sie bei allen Mikroben in großer Menge vorhanden sind. Das Erkennen solcher weit verbreiteten, hochkonservierten Antigene kann zu einer vorbeugenden

Tabelle 1. Streßproteine als Hauptantigene bei verschiedenen Infektionen (eine Auswahl; verändert nach [6])

Infektion	Erreger	HSP
Malaria Chagas-Krankheit	<i>Plasmodium falciparum</i> <i>Trypanosoma cruzi</i>	HSP90, HSP70 HSP90, HSP70
Leishmaniosen	<i>Leishmania amazonensis</i> L. <i>donovani</i> <i>L. major</i>	HSP90 HSP70 HSP70
Schistosomiasis (Bilharziose)	<i>Schistosoma mansoni</i>	HSP90, HSP70, HSP25
Candidiose	<i>Candida albicans</i>	HSP90, HSP70
Filariose	<i>Brugia malayi</i>	HSP70
Onchozerkose	<i>volvulus</i>	HSP70 HSP70,
Tuberkulose	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	HSP60, HSP25, GroES HSP70, HSP60, HSP25, GroES HSP70,
Lepra	<i>M. leprae</i>	HSP60 HSP70, HSP60 HSP60 HSP60 HSP6
Trachom	<i>Chlamydia trachomatis</i>	0
Lyme-Krankheit	<i>Borrelia burgdorferi</i>	
Fieber Syphilis	<i>Coxiella burnetii</i>	
Legionärskrankheit	<i>Treponema pallidum</i>	
Brucellose	<i>Legionella pneumophila</i>	
Keuchhusten		
Magengeschwüre,	<i>Brucella abortus</i>	HSP60
Gastritis	<i>Bordetella pertussis</i> <i>Heliobacter pylori</i>	HSP60 HSP60

Immunität beitragen und eine Früherkennung und Abwehr ermöglichen. Der ständige Kontakt gesunder Individuen mit Mikroorganismen geringer Virulenz führt so zur Fokussierung der Immunantwort auf mikrobiell konservierte Regionen der HSP und zu einer schnellen Antwort bei einer Invasion. Die schnelle Mobilisierung des Immunsystems durch HSP war Grundlage für erfolgreiche Experimente, in denen spezifische, an HSP gebundene Antigene bei Impfungen eingesetzt wurden. Möglicherweise lassen sich durch eine derartige Kopplung viraler oder anderer Antigene an HSP wirksamere Impfstoffe entwickeln. Ist die Fokussierung des Immunsystems auf mikrobiell konservierte HSP-Regionen unzureichend, werden auch HSP-Regionen erkannt, die auf wirts eigenen HSP vorkommen. Dies könnte eine Verbindung von Infektion und Autoimmunität herstellen, sofern wirtseigene Zellen auch Selbst-HSP-Peptide präsentieren. Eine solche Präsentation von Selbst-HSP-Peptiden durch die Haupthistokompatibilitätskomplexe (MHC 1+11), aber auch direkt auf der Zelloberfläche, wurde bei vielen Zellen nachgewiesen. Möglicherweise haben wirtseigene Streßproteine eine Funktion bei der Präsentation von Fremdprotein, indem sie diese Proteine binden, prozessieren und auch selbst präsentieren. Aber auch eine Hilfsfunktion bei der Präsentation durch MHC 1+11 ist denkbar [10, 11]. Die strukturelle Analogie der C-terminalen Peptidbindungsstelle von HSP70 und derjenigen von MHC sowie die Lokalisation der HSP70-Gene in der Nachbarschaft der MHC-Gene stützen eine solche Vermutung. An diese präsentierten oder präsentierenden Selbst-HSP-Peptide binden bevorzugt ydT-Zellen. ydT-Zellen wurden erst vor wenigen Jahren beschrieben. Sie bilden eine kleine Gruppe der T-Zellpopulation und sind in der Regel CD4- und CD8-negativ. Ihre Antigenerkennung scheint nicht über die herkömmlichen MHC zu erfolgen. Möglicherweise erkennen YdT-Zellen präsentierte Streßproteine direkt oder indirekt, indem Streßproteine wie z. B. HSP70, selbst das Antigen-präsentierende Molekül für die ydT-Zellerkennung sind. Synthese und Präsentation von HSP auf körpereigenen Zellen als Indikator gestreßter Zellen und ihre Erkennung durch ydT-Zellen führte auch zu Spekulationen über eine Immunüberwachung gestreßter Zellen, die dann selektiv beseitigt werden [6].

Die Beziehung zwischen Immunsystem und Streßproteinen ist offensichtlich ambivalent: "Freund oder Feind". Auf der positiven Seite könnten HSP einer vorsorglichen Immunität gegen Infektionen dienen oder bei der selektiven Erkennung und Beseitigung gestreßter Zellen im Rahmen einer Immunüberwachung mitwirken, auf der negativen Seite aber zu immunpathologischen Prozessen oder Autoimmunkrankheiten führen. HSP60 scheint sowohl bei der durch Adjuvantien

(Freundsches komplettes Adjuvans mit mycobakteriellem Anteil) induzierten Arthritis als auch beim insulinabhängigen Diabetes eine Rolle zu spielen. Beide Defekte lassen sich durch Immunisierung mit HSP60 verzögern bzw. verhindern. In Tabelle 2 sind einige weitere Autoimmunerkrankungen aufgelistet, bei denen entweder Streßproteine vermehrt synthetisiert werden oder die humorale oder zellvermittelte Immunantwort gegen Streßproteine gerichtet ist [6,12,13].

Streßproteine bei Ischämie

Ischämie ist die Folge einer Blutunterversorgung von Geweben (Sauerstoff- und Nährstoffmangel) und kommt z. B. nach Infarkt oder Schlaganfall im Herzmuskel und im Gehirn vor, spielt aber auch eine Rolle bei Arteriosklerose und Herzhypertrophie. Die Unterversorgung selbst und vor allem die Reperfusion (Wiederdurchblutung) führen zu erhöhter HSP-Synthese, deren Stärke mit dem Grad der Schädigung korreliert. Eine Quantifizierung von Streßproteinen im geschädigten Gewebe könnte Aufschluß über die Stärke der Schädigung und die Schwere des Infarktes geben. HSP70-Überexpression oder Vorbehandlungen, die zu erhöhter HSP70-Expression führen, mindern den schädigenden Effekt einer nachfolgenden Ischämie [14-16]. Eine künstlich, medikamentös oder durch Vorbehandlung, erzielte Erhöhung der HSP-Konzentration vor Operationen oder Transplantationen bietet möglicherweise zusätzlichen Schutz vor Schädigungen, z. B. bei Sauerstoffmangel.

Tabelle 2. Autoimmunkrankheiten, bei denen Streßproteine eine Rolle spielen (eine Auswahl; verändert nach [6]). Bei einigen Erkrankungen werden Streßproteine in erhöhtem Maße synthetisiert, bei anderen ist die humorale oder zellvermittelte Immunantwort gegen Streßproteine gerichtet, oder der Defekt läßt sich durch Immunisierung mit Streßproteinen verzögern bzw. verhindern

Autoimmunkrankheit	HSP
Insulinabhängiger Diabetes	HSP60
Adjuvant-induzierte Arthritis	HSP60
Pristan-induzierte Arthritis	HSP60
Reaktive Arthritis	HSP60
Rheumatoide Arthritis (Bechterew'sche Krankheit)	HSP60
Multiple Sklerose	HSP70, HSP60
Systemischer Lupus erythematodes (SLE)	HSP60
Chronische Gastritis	HSP60
Behcet-Krankheit	HSP60
Arteriosklerose	HSP60
Systemische Sklerose	HSP60
Psoriasis (Schuppenflechte)	HSP60
Kawasaki'sche Krankheit	HSP60

Stressproteine, das endokrine System und Alternsvorgänge

Eine interessante Beobachtung zur Aktivierung von Stressgenen in intakten Organismen stammt von Blake und Mitarbeitern [17]. Danach reicht eine einstündige physikalische Bewegungseinschränkung bei Ratten aus, um die Induktion einzelner Stressproteine in der Nebennierenrinde und der glatten Muskulatur arterieller Gefäße auszulösen. In der Nebennierenrinde wird nur HSP70, in der glatten Arterienmuskulatur außerdem HSP27 induziert. Bei Säugern wurde schon früher gezeigt, daß eine Bewegungshemmung zu rascher Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse und des sympathischen Nervensystems führt. Durch Eingriffe in dieses System mit Substanzen wie Dexamethason (einem synthetischen Glucocorticoid), die zu einem reduzierten ACTH-Spiegel führen, konnte die Induktion von HSP70 in der Nebennierenrinde auf ein Viertel reduziert werden. Nach vollständiger Eliminierung des endogenen ACTH durch Hypophysektomie kommt die Expression von HSP70 bei der Ratte ganz zum Erliegen. ACTH-Injektion allein führt bei diesen Tieren zur Induktion von HSP70 in der Nebennierenrinde. Während dieser Behandlung blieb die HSP70-Expression in der glatten Arterienmuskulatur unbeeinflusst. Bei diesen Zellen scheint die HSP70-Expression von der Aktivierung des sympathischen Nervensystems über adrenerge Hormone abzuhängen. Eine spezifische Blockierung des α 1-adrenergen Rezeptors vor der Bewegungshemmung unterdrückte die HSP70-Expression in der glatten Arterienmuskulatur fast vollständig. Auf die HSP70-Expression in der Nebennierenrinde hatte eine solche Behandlung keinen Einfluß. Die Induktion von HSP70 in beiden Geweben wird durch die Aktivierung von HSF1 vermittelt und nimmt mit zunehmendem Alter der Versuchstiere ab. Sowohl die Menge an HSF1 als auch an ACTH oder anderen Hormonen bleibt trotz zunehmendem Alter unverändert. Daraus läßt sich ableiten, daß entweder HSF1 selbst oder eine Komponente des Aktivierungsmechanismus altersabhängig verändert wird [18, 19]. Eine abgeschwächte Stressantwort bei zunehmendem Alter wurde auch bei anderen Versuchstieren, in Zellkulturen und bei niederen Organismen nach Exposition gegenüber verschiedenen Stressoren beobachtet und ist somit nicht auf Stress durch Bewegungshemmung beschränkt. Ein der Bewegungshemmung ähnliches Expressionsmuster von Stressproteinen findet sich auch nach operativen Eingriffen. Ob auch physischer, psychischer oder emotionaler Stress zur Induktion von Stressproteinen führen kann, wurde bislang nur wenig untersucht. Erste Experimente deuten diese Möglichkeit an (Kirschbaum, Fracella, unveröffentlicht).

Ein Hitzeschockelement mit starker Affinität für HSF1 und HSF2 wurde auch im Promotor von Angiotensinogen zwischen einem Akute-Phase- und einem Glucocorticoid-regulierten Element identifiziert. Möglicherweise spielt die Aktivierung von Angiotensinogen durch HSF neben Glucocorticoiden und ACTH eine Rolle bei der Regulation des Blutdrucks in Stresssituationen [2].

Stressproteine, Hyperthermie und Krebs

Viele Tumoren sind gegenüber Hitze empfindlicher als normales Gewebe und können durch Hyperthermie zerstört werden [20, 21]. Die tumoreigene Stressantwort wirkt einer effektiven Hitzebehandlung entgegen. Neuere Untersuchungen haben gezeigt, daß Zellen während der Mitose nicht zur Stressantwort in der Lage sind [22]. Eine effektivere Hyperthermie-Behandlung von Tumoren bei Arretierung der Tumorzellen in der Mitosephase erscheint daher möglich.

Wird in Tumoren durch die Hitzebehandlung eine Stressantwort ausgelöst, sind diese Zellen anschließend resistenter gegenüber Bestrahlung oder Chemotherapeutika. Eine erhöhte Menge an HSP70 in Tumoren führt auch zu erhöhter Resistenz gegenüber Lyse durch den Tumornekrose-Faktor (*TNF- α* ; [23]). Viele Chemotherapeutika (z. B. Cisplatin, Daunomycin, Doxorubicin, Cytosinarabinosid, 3'-Fluorodeoxythymidin, Colchicin und Vincristin) lösen auch ihrerseits schon bei den therapeutisch wirksamen Konzentrationen eine Stressantwort beim Tumor aus und bewirken in den überlebenden Zellen Resistenz gegen ihre eigene Wirkung. Wenn möglich, sollten also Chemotherapeutika verabreicht werden, die zumindest in den üblichen Konzentrationen keine Stressantwort auslösen (z. B. 5'-Fluorouracil, Aminopterin, Amethopterin, Mithramycin und Cyclophosphamid) und damit Anpassungsvorgänge anschalten [24]. Der Gehalt von Tumorzellen an Stressproteinen gibt Aufschluß über ihre Empfindlichkeit gegenüber einer Therapie. Andererseits wurde beobachtet, daß eine erhöhte Expression von Stressproteinen nach Hyperthermie-Behandlung mit einer verstärkten Oberflächenpräsentation der induzierten Form von HSP70 einhergeht und mit einer erhöhten Immunogenität der Tumorzellen korreliert [25]. Sowohl *gd-T-* als auch *aß-T-*Zellen sind an der Lyse von Tumorzellen beteiligt. Durch die erhöhte HSP70-Präsentation wird hauptsächlich die Lyse durch *aß-T-Zellen* verstärkt [25].

Ein Zusammenhang scheint zwischen Stressproteinsynthese, verschiedenen onc-Proteinen und der malignen Transformation zu bestehen. Einerseits führen verschiedene Stressoren außer zu erhöhter Stressproteinsynthese auch zu Veränderungen der Menge eini-

ger zellulärer onc-Proteine (c-Fos, c-Myc), andererseits stimuliert neben verschiedenen viralen onc-Proteinen (T-Antigen, Adenovirus E1A) auch c-Myc die Expression von Streßproteinen, z. B. HSP70 [26, 27]. Interessant ist, daß HSP70 und c-Myc im Zellkern koakkumulieren; möglicherweise wird c-Myc hier durch eine Bindung an HSP70 in einem inaktiven Zustand gehalten [28]. Für das Tumorsuppressorprotein p53 wurde eine Unterdrückung der Expression von HSP70 durch Interaktion mit dem CCAAT-bindenden Faktor beschrieben [29].

HSP70 bindet außer an verschiedene zelluläre und virale Tumorproteine auch an die mutierte Form von p53 (p53*) [30-32] sowie möglicherweise an die WildtypForm von p53 (wt-p53) [33]. Viele Tumoren weisen p53-Mutationen und erhöhte Mengen an p53* auf [34, 35]. p53* kann im Cytoplasma Komplexe mit dem wt-p53 bilden und so die tumorsupprimierende Wirkung des wt-p53 einschränken [36]. Die Bindung von HSP70 an p53* erhöht dessen Stabilität und führt indirekt zu einer erhöhten Menge an p53*. Andererseits könnte die Bindung von HSP70 an p53* den aktiven, DNAbindenden wt-p53 aus dem Komplex freisetzen oder an der Translokation von wt-p53 in den Zellkern beteiligt sein [36-39]. Das würde insofern einen plausiblen Zusammenhang ergeben, als p53 ein wichtiges Element bei der Schadenskontrolle der Zelle ist und die induzierbare Form von HSP70 einen Schadensfall signalisiert. Die mögliche Begünstigung der DNA-bindenden aktiven Form von p53 durch HSP70 und die Unterdrückung der Expression von HSP70 durch die aktive Form von p53 lassen vermuten, daß einem Chaperon hier eine wichtige Rolle bei der Regulation der tumorsupprimierenden Wirkung eines Proteins zukommen könnte [29,39].

Streßproteine in der, Toxikologie

Wie oben dargestellt, kann das Auftreten von mikrobiellen Streßproteinen oder von erhöhten Mengen an zelleigenen Streßproteinen in verschiedenen Geweben diagnostisch indirekt oder direkt als Indikator für pathogene Veränderungen genutzt werden. Entsprechend liegt es nahe, Veränderungen in der zellulären Streßproteinmenge auch als Indikator für toxikologische Analysen einzubeziehen. Die Bestimmung des zellulären Streßproteingehalts (z. B. HSP70) mittels empfindlicher Methoden, z. B. Immunoassays oder transgener Reporter-Organismen, könnte als Indikatorsystem vor allem für die Proteintoxizität dienen und Ergebnisse von Gentoxizitätsuntersuchungen stützen. Streßindikatorsysteme könnten Aussagen über zugrundeliegen

de Zell schädigungen durch ein breites Spektrum von Wirkstoffen, z. B. Umweltchemikalien, UV-Licht, ionisierende Strahlung, Pharmaka, Kosmetika und Lebensmittelzusätze, erlauben. Die konkreten Auswirkungen von Belastungen auf Organismen könnten mit derartigen Testsystemen differenzierter beurteilt werden als über globale Parameter wie Zellproliferation und Zelltod allein.

Auch zur Überwachung von Umwelt schadstoffen ließe sich ein solches System einsetzen. Besonders gut hierfür geeignet scheint ein kleiner, transparenter Nematode (*Caenorhabditis elegans*) zu sein. Diesen Würmern wurde ein vom Hitzeschock-Promotor kontrolliertes Reporter-gen (β -Galaktosidase) übertragen. Nach Einwirkung verschiedener Umweltschadstoffe wird β -Galaktosidase exprimiert. Diese Expression (auch die Aktivität in einzelnen Zellen) kann *in vivo* (im lebenden Organismus) durch Zugabe eines unschädlichen Farbsubstrates leicht sichtbar gemacht werden und korreliert mit dem Grad der Schädigung [40].

Bei all diesen Möglichkeiten ist es wichtig zu wissen, wie der zelluläre Gehalt an Streßproteinen mit der Konzentration toxischer Agentien korreliert. Wir haben daher Untersuchungen an Gliom-Zellkulturen von Ratten durchgeführt, bei denen wir die von der Alkohol- und Cadmiumkonzentration abhängige Mengenzunahme an konstitutivem und induzierbarem HSP70 bestimmt haben. Zum Vergleich haben wir andere Zytotoxizitätstests (Neutralrot, Trypanblau) verwendet, um das Ausmaß der Zellschädigung abzuschätzen, bei dem Streßproteine vermehrt gebildet werden. Als Ergebnis fanden wir bei den geprüften Agentien eine maximale Streßproteininduktion dann, wenn ihre Konzentration den Beginn einer Reaktion bei den anderen Toxizitätsindikatoren erkennen ließ. Daraus ergibt sich, daß das Auftreten erhöhter Mengen an induzierbaren Streßproteinen eine erste Zellschädigung empfindlich anzeigt [41].

Ausblick

Der Streßproteingehalt von Zellen und Geweben ist ein guter Meßparameter des zellulären Belastungszustandes und der von der Zelle mobilisierten Schutzmechanismen. Auch wenn viele Aspekte der zellulären Streßantwort und ihrer medizinischen Anwendung noch weiterer Aufklärung bedürfen, zeichnen sich doch bereits Möglichkeiten ab, sie sowohl für diagnostische Zwecke als auch in der Therapie von Infektions- und Autoimmunkrankheiten gezielt einzusetzen. Im Rahmen der Umweltüberwachung oder von Toxizitätsprüfungen können zusätzliche Informationen gewonnen werden.

1. Nover, L. (ed): Heat Shock Response. Boca Raton, Fl.: CRC Press 1991
2. Morimoto, R.I., Tissieres, A., Georgopoulos, C. (eds.): The Biology of Heat Shock Proteins and Molecular Chaperones. Cold Spring Harbor Laboratory 1994
3. Frydman, J., Hartl, F.-U., in: [2], p. 251
4. Jakob, U., Buchner, J.: TIBS 19, 205 (1994)
5. Hoj, A., Jakobsen, B.K.: EMBO J. 13,2617 (1994)
6. Kaufmann, S. H. E., Schoel, B. in: [2], p. 495
7. Gause, A., Satin, U., Pfreundschuh, M.: Dtsch. med. Wschr. 116, 1664 (1992)
8. Morimoto, R. I., Tissieres, A., Georgopoulos, C. (eds.): Stress Proteins in Biology and Medicine. Cold Spring Harbor Laboratory 1990
9. Jurivich, D. A., Sistonen, L., Sarge, K.D., Morimoto, R.I.: Proc. Nat. Acad. Sci. USA 91, 2280 (1994)
10. Jacquier-Sarlin, M.R., Polla, B.S.: Med. Sci. 10, 31 (1994)
11. Srivastava, P. K., in: [42], p. 329
12. Elias, D., Reshef, T., Birk, O. S., Van der Zee, R., Walker, M.D., Cohen. I. R.: Proc. Nat. Acad. Sci. USA 88, 3088 (1991)
13. Xang, X.-U., Feige, U- Experientia 48, 650 (1992)
14. Benjamm, I.J., Williams, R.S. in: [2], p. 533
15. Nowak, Jr., T S., Abe, H., in: [2], p. 553
16. Currie, R.W., in: [42], p. 333
17. Blake, M. J., Udelsman, R., Feulner, G. J., Norton, O.O., Holbrook, N.J.: Proc. Nat. Acad. Sci. USA 88,9873 (1991)
18. Fawcett, T. W., Udelsman, R., Sarge, K.D., Morimoto, R.I., Holbrook, N.J., in: [42], p. 331
19. Holbrook, N J., Udelsman, R. in: [2], p. 577
20. Abe, M., Hiraoka, M., in: [8], p. 117
21. Dewhirst, M.W., in: [8], p. 101
22. Wu, C., in: [42], p. 4
23. Jäättelä, M., Wissing, O., Bauer, P. A., Li, G. C.: EMBO J. 11, 3507 (1992)
24. Bielka, H., Hoinkis, G., Oesterreich, S., Stahl, J., Benndorf, R.: FEBS Lett. 343, 165 (1994)
25. Multhoff, G., Botzler, C., Meier, T., Wiesnet, M., IsseIs, R.D., in: [42], p. 330
26. Taira, T., Neggisti, Y., Kitara, F., Iguchi-Ariga, S. M. M., Ariga, H.: Biochim. Biophys. Acta 120, 166 (1992)
27. Ariga, H., Taira, T., Narita, T., Iguchi-Ariga, S. M. M., in: [42], p.21
28. Henriksson, M., Classon, M., Axelson, H., Klein, G., Thyberg, J.: Exp. Cell. Res. 203, 383 (1992) 29. Agoff, S. N., Hou, J., Linzer, D. I. H., Wu, B.: Science 259,84 (1993) 30. Stürzbecher, H.-W., Addison, C., Jenkins, J. R.: Mol. Cell. Biol. 8, 3740 (1988)
31. Finlay, C.A., Hinds, P. W., Tan, T.-H., Eliyatou, O., aren, M., Levine, A.J.: ibid. 8, 531 (1988)
32. Yehiely, F., aren, M.: Cell Growth Differ. 3, 803 (1992)
33. Lehman, T. A., Bennett, W. P., Metcalf, R. A., Welch, J. A., Ecker, J., Modali, R. V., Ullrich, S., Romano, J. W., Appella, E., Testa, J.R., Gerwin, B.I., Harris, C.C.: Cancer Res. 51, 4090 (1991)
34. Lane, D. P., Benchimol, S.: Genes Dev. 4, 1 (1990)
35. Levine, A.J., Momand, J., Finlay, C.A.: Nature 351,453 (1991)
36. Montenart, M.: Oncogene 7, 1673 (1992)
37. Gannon, J. V., Lane, D.P.: Nature 349,802 (1991)
38. Moll, U. M., Riou, G., Levine, A. J.: Proc. Nat. Acad. Sci. USA 89, 7262 (1992)
39. Lane, D. P., Midgley, C., Hupp, T.: Ptil. Trans. R. Soc. Lond. 339, 369 (1993)
40. Candido, E. P. M., Stringham, E. G., in: [42], p. 49
41. Neuhaus-Steinmetz, U., Xu, C., Fracella, F., Oberheitmann, B., Richter-Landsberg, C., Rensing, L.: Mol. Pharmacol. 45, 36 (1994)
42. Abstract-Band zur vierten internationalen Tagung zur Hitzeschockantwort, Cold Spring Harbor 1994, "Biology of Heat Shock Proteins and Molecular Chaperones"