

Die Rolle von Makrophagen in Entzündungen und Tumoren: neue Stabilin-1-vermittelte Prozesse

The Role of Macrophages in Inflammation and Cancer: New Processes Mediated by Stabilin-1

Autoren

J. Kzhyshkowska

Institute

Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie, Medizinische Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg

Bibliografie

DOI 10.1055/s-2007-995658
Akt Dermatol 2008; 34:
72–84 © Georg Thieme
Verlag KG Stuttgart · New York
ISSN 0340-2541

Korrespondenzadresse

PD Dr. Julia Kzhyshkowska
Klinik für Dermatologie,
Allergologie und Venerologie
Medizinische Fakultät
Mannheim
der Universität Heidelberg
Universitätsklinikum Mannheim
Theodor-Kutzer-Ufer 1–3
68167 Mannheim
julia.kzhyshkowska@
haut.ma.uni-heidelberg.de

Zusammenfassung

▼ Makrophagen sind die entscheidenden Zellen bei der Initiation, Progression und Modulation inflammatorischer Reaktionen. Im gesunden Gewebe sorgen Makrophagen für eine homöostatische Balance. Zur Erfüllung ihrer Funktionen sind Makrophagen weit verbreitet: in großer Zahl kommen Makrophagen in lympho-hämatopoetischen Organen, in anderen differenzierten Geweben wie Lunge, Darm und Haut und in der Plazenta vor. Hier kommunizieren sie mit anderen Zellen über zahlreiche Oberflächenrezeptoren und lösliche Mediatoren. Alternativ aktivierte Makrophagen (M2) spielen eine Schlüsselrolle in der Initiation und Regulation anti-inflammatorischer Prozesse, in der Induktion von Heilungsprozessen sowie auch in Tumorprogression und Metastasierung. M2 werden in vitro durch das Th2-Zytokin IL-4 und durch Glukokortikoide induziert. Stabilin-1 ist ein Multidomänenprotein, das selektiv von M2 exprimiert wird. Wir konnten hier zeigen, dass Stabilin-1 ein spezieller Scavenger-Rezeptor ist und zwei Funktionen in alternativ aktivierten Makrophagen besitzt: Endozytose und intrazelluläre Sortierung. In M2 vermittelt Stabilin-1 einen neuen Prozess – die In-

ternalisierung von SPARC, nicht-strukturelle Komponente der extrazellulären Matrix, der als entscheidender Regulator von Entwicklungsprozessen, Gewebeumbau, Angiogenese, Wundheilung und Tumoraggressivität funktioniert. Andererseits funktioniert Stabilin-1 als Sortierungsrezeptor für das neue Chitinase-ähnliche Protein SI-CLP und transportiert es zu dem lysosomalen Sekretionsweg. Die Identifikation von Stabilin-1 als Sortierungsrezeptor für SI-CLP ist das erste bekannte Beispiel für einen lysosomalen Sortierungsprozess, der speziell in alternativ aktivierten Makrophagen stattfindet. Makrophagen stellen eine Hauptproduktionsquelle für das Vorkommen verschiedener menschlicher Chitinasen und Chitinase-ähnlichen Proteine, die als Biomarker für Entzündungen und Tumoren dienen. Der von uns neu generierte monoklonale Rattenantikörper 1C11 gegen SI-CLP detektiert das Protein mit einer hohen Spezifität in menschlichem Gewebe und in peripheren Blutleukozyten und wird als Werkzeug für die Untersuchung von SI-CLP-assoziierten Erkrankungen dienen. SI-CLP ist auch ein potenzieller Marker für die individuelle Sensitivität von Patienten gegenüber Glukokortikoiden und für die Vorhersage der Nebenwirkungen der Glukokortikoidtherapie.

Makrophagen als Effektorzellen der T-Zell-Immunität: klassische und alternative Aktivierung

▼ Um infektiöse, toxische oder allergische Agentien zu eliminieren, muss der Körper mit einer hochkomplexen inflammatorischen Reaktion antworten. Gleichzeitig gibt es komplexe natürliche Mechanismen, um die inflammatorische Reaktion herunterzuregulieren, sobald das verursachende Agens eliminiert wurde. Im gesunden Organismus findet die Herabregulierung parallel zu Gewebeumbau und Heilung statt. Ein Ungleichge-

wicht zwischen inflammatorischen und Heilungsprozessen kann in pathologische Entwicklungen wie Allergien, chronische Entzündungen und Karzinogenese münden (◉ **Abb. 1**). Makrophagen sind die entscheidenden Zellen bei der Initiation, Progression und Modulation inflammatorischer Reaktionen. Im gesunden Gewebe schaffen Makrophagen eine homöostatische Balance zwischen der zellulären und molekularen Ebene. Zur Erfüllung ihrer Funktionen sind Makrophagen weit verbreitet: sie kommen in lympho-hämatopoetischen Organen, in verschiedenen anderen differenzierten Geweben und in der

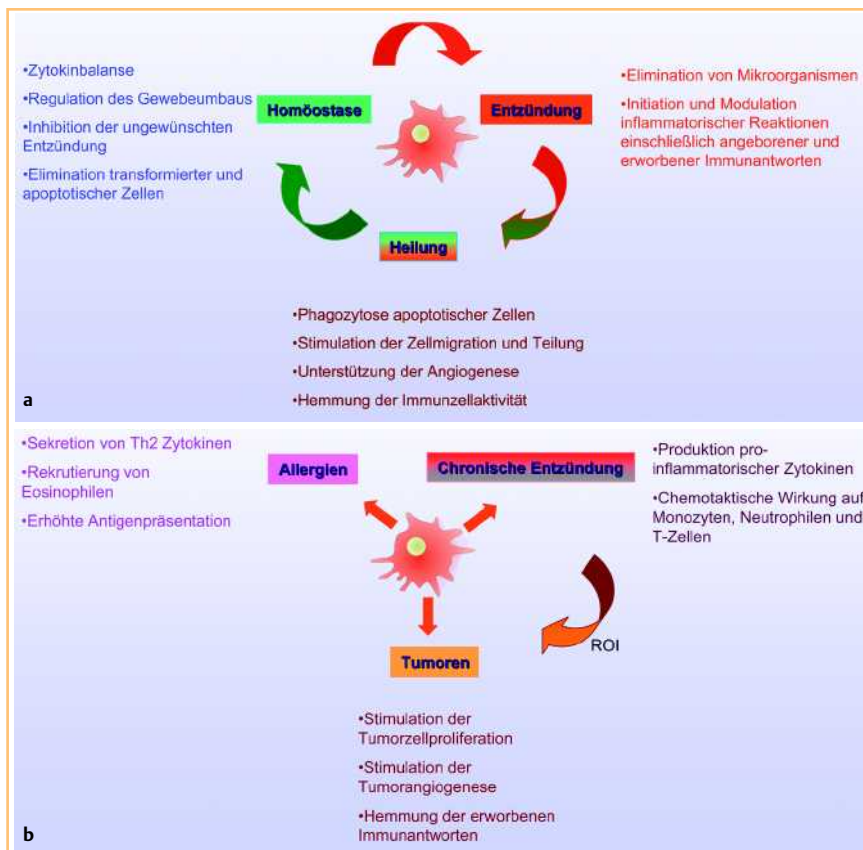


Abb. 1 Makrophage als Regulatoren der Homöostase und pathologischen Prozesse. **a** Die wichtigsten Aktivitäten von Makrophagen in der Homöostase, in der akuten Entzündung und in der Heilung. **b** Pathologische Aktivitäten von Makrophagen.

Plazenta vor. Hier kommunizieren sie mit anderen Zellen über zahlreiche Oberflächenrezeptoren und lösliche Mediatoren. Ausgewählte Funktionen von Makrophagen sind in **Tab. 1** zusammengefasst.

Die Funktion von Makrophagen wurde ursprünglich in der Phagozytose, der Antigenprozessierung, der Antigenpräsentation sowie in der zytokinvermittelten Th1-Antwort gesehen. $IFN\gamma$ und bakterielle Lipopolysaccharide (LPS) wurden als Hauptmediatoren für die klassische Aktivierung von Makrophagen identifiziert (Typ 1 (M1) Makrophagen) [1 – 3]. M1 stimulieren inflammatorische Reaktionen durch Sekretion pro-inflammatorischer Zytokine wie $TNF\alpha$ und IL-1, sowie des Th1-fördernden Zytokins IL-12. Im Gegensatz dazu fördern anti-inflammatorische Substanzen wie IL-4, IL-10, IL-13, TGF β und Glukokortikoide die Hemmung der Expression von pro-inflammatorischen Zytokinen und induzieren die alternative Aktivierung von Makrophagen. Alternativ aktivierte Makrophagen (Typ 2 (M2) Makrophagen) haben eine Schlüsselrolle in der Initiation und Regulation anti-inflammatorischer Prozesse sowie in der Umschaltung von einer Th1- zu einer Th2-Antwort und in der Induzierung von Heilungsprozessen [2 – 4]. Alternativ aktivierte Makrophagen exprimieren eine Gruppe spezifischer Moleküle, die sie dazu befähigen, aktiv an anti-inflammatorischen Prozessen, Toleranzinduktion und Heilung teilzunehmen. Unter der Verwendung der Substraktionshybridisierung und von DNA Chipanalysen konnten verschiedene bekannte als auch unbekannte Proteine als spezifische Marker für M2 identifiziert werden. Diese Proteine gehören verschiedenen funktionellen Gruppen an: anti-inflammatorischen Zytokinen (AMAC-1) [5], extrazellulären Matrixproteinen (β IG-H3, Fibronectin) [6] und anderen extrazellulären Matrixkomponenten (ECM) sowie ECM-Umbaufaktoren (Fibronectin, Tenascin-c, MMP12) [7].

Glukokortikoide unterstützen die hemmenden Effekte von Th2-Zytokinen auf die antiinflammatorische Funktion der Makrophagen. Des Weiteren fördern Glukokortikoide die Entwicklung eines speziellen Makrophagenphänotyps ($M2_{GC}$), welcher teilweise mit dem Phänotyp von $M2_{IL-4}$ überlappt. Zu den speziellen Eigenschaften von $M2_{GC}$ gehört die Erhöhung der Phagozytose- und Endozytoseaktivität [7 – 9] und ein Mangel an ECM-Umbaueigenschaften [6, 7].

Flexibilität des Makrophagenphänotyps

Ausführliche Studien der Makrophagendifferenzierung und -aktivierung ergaben ausreichende Daten, um das mononukleäre Phagozytensystem als ein dynamisches Kontinuum funktioneller Zustände zu definieren [1, 10, 11]. Typ 1 (M1) und Typ 2 (M2) Makrophagen repräsentieren die zwei Extreme dieses Kontinuums in Anlehnung an die Th1 und Th2 adaptive Immunantwort [2 – 4, 12].

Makrophagen im lebenden Organismus treffen auf ein dynamisches Netzwerk komplexer Signale, einschließlich vieler Faktoren wie Zytokine, Hormone und Pathogene. Erst kürzlich haben einige Studien die Wichtigkeit der sequentiellen Stimulation für die Entwicklung des funktionellen Zustands von Makrophagen gezeigt [13]. Die Vorbehandlung von Makrophagen mit $IFN\gamma$ erwies sich als wichtig für die effektive Produktion von $TNF\alpha$ als Antwort auf eine Lipopolysaccharid (LPS)-Stimulation [14] und die Umprogrammierung der IL-10-Aktivität [15, 16]. Die Behandlung der Makrophagen mit IL-4 vor der LPS-Stimulation moduliert die Produktion von $TNF\alpha$ und IL-1 α [17, 18]. Der am deutlichsten ausgeprägte Effekt in dieser Hinsicht war die Aufhebung der pro-inflammatorischen Antwort auf LPS durch die Vorbe-

Tab. 1 Hauptfunktionen von Makrophagen

Biologische Funktion	Zelluläre und molekulare Prozesse
Elimination von Mikroorganismen	Erkennung und Phagozytose; Internalisierung; intrazelluläre Zerstörung; Rekrutierung von Neutrophilen
Chemotaxis	Expression von Rezeptoren für Chemokine und Zytokine; Endothelbindung; Migration durch das Endothel auf die Entzündungsseite
Antigenpräsentation	Internalisierung von Antigenen; Prozessierung von Klasse I und Klasse II Antigenen Antigenpräsentation; Zytokin-vermittelte Aktivierung von T-Zellen
Sekretion	Sekretion von Enzymen, Zytokinen, Enzym- und Zytokininhibitoren, Komplementbestandteilen; reaktiven Sauerstoffprodukten, Arachidonsäure-Zwischenstufen, Koagulationsfaktoren, extrazellulären Matrixbestandteilen
Tumorkontrolle	Hemmung der Tumorzellteilung; Kontaktabhängige Zytotoxizität; Antikörperabhängige Zytotoxizität; Hemmung und Unterstützung der Angiogenese
Regulation des Reproduktionsprozesses	Kontrolle der Follikel- und Steroidgenese; Zytokinvermittelte Kontrolle der Lutealentwicklung und Regression; Aufrechterhaltung und Progression der Endometriose; Lokale Immunregulation der Dezidua; Kontrolle der Trophoblastenentwicklung und Einwanderung in den Uterus; Aufrechterhaltung der Schwangerschaft

handlung der Makrophagen mit Immunkomplexen [19–22]. Ausgedehnte Analysen der Makrophagenplastizität konnten erst kürzlich in unserer Abteilung vervollständigt werden [8]. Wir analysierten die Fähigkeit der Makrophagen, auf unterschiedliche Mikroumgebungen zu reagieren. Dies ist unerlässlich, um den Mechanismus der Interaktion zwischen angeborenem und erworbenem Immunsystem zu verstehen. Es zeigte sich, dass eine sekundäre alternative Aktivierung von M1_{IFN γ} durch Th2-Zytokine die anti-inflammatorische Zytokinproduktion von IL-1 α und AMAC-1 induziert. Dies erhöhte die Phagozytosekapazität und senkte die bakterielle Zerstörung in den Zellen. Umgekehrt induzierte IFN γ effizient die Erhöhung der bakteriziden Aktivität und senkte die Phagozytosekapazität in M1. IFN γ induzierte allerdings nicht die Produktion der typischen M1-assoziierten pro-inflammatorischen Zytokine TNF α , IL-1 β oder IL-12p40 in M1 und in M2 sowie in unstimulierten Makrophagen. Bakterielle Stimuli wie LPS (Lipopolysaccharid) und MDP (Muramyldipeptid) induzierten die klassische pro-inflammatorische Antwort in allen Makrophagenpopulationen, jedoch nicht die Produktion von IL-12 in M1_{IFN γ} . Im Allgemeinen unterschied sich die Sekundärantwort trotz des ähnlichen Reaktionstyps oft quantitativ von der Primärantwort, abhängig von der Prästimulation. Es konnte gezeigt werden, dass polarisierte Makrophagen angemessen auf die alternative als auch auf die klassische Aktivierung reagieren sowie auf exogene inflammatorische Stimuli, um vorbestehende Immunreaktionen herabzure-

gulieren, antibakterielle Antworten zu sichern und Autoimmunität zu verhindern [8].

Scavenger Rezeptoren und ihre Liganden

▼ Gewebsmakrophagen und sinusoidale Endothelzellen sind die wesentlichen professionellen Scavengerzellen. Sie sind verantwortlich für die Reinigung des Extrazellulärraums sowie die Blut- und Lymphzirkulation von zellulärem und makromolekularem Debris. Diese Zellen besitzen zahlreiche Scavenger/Lektin-Rezeptoren [23–25], die die Aufnahme und den Abbau von Selbst- oder Fremdliganden vermitteln. Dazu gehören ECM-Komponenten, Serumproteine, apoptotische und nekrotische Zellen sowie bakterielle und virale Produkte. Scavenger Rezeptoren (SRs) umfassen zahlreiche strukturell nicht verwandte Transmembranmoleküle, die bevorzugt auf Makrophagen und ausgewählten Endothelien exprimiert werden. SRs haben eine deutliche Spezifität für polyanionische Liganden [26,27]. Ein klassisches Beispiel für einen Scavenger-Rezeptor ist SR-A. SR-A vermittelt die Aufnahme und den Transport von OxLDL bis hin zum lysosomalen Abbau. Ähnliches gilt für das synthetische Analogon acLDL [28].

Ein anderes Beispiel für einen Scavenger-Rezeptor mit einer breiten Ligandenspezifität ist der Makrophagen-Mannoserezeptor (MMR, CD206). Der MMR wird sowohl in Makrophagen als auch in sinusoidalen Endothelzellen exprimiert [29]. Der MMR erkennt und vermittelt die Internalisation einer großen Vielzahl von Mikroorganismen [30]. Im Gegensatz zu anderen „Pattern recognition“ Rezeptoren wie Toll-like-Rezeptoren (TLRs) ist der MMR nicht in der Lage, zwischen pathogenen und nicht-pathogenen bakteriellen Stämmen zu unterscheiden. Dabei zeigt eine zunehmende Zahl an Untersuchungen, dass die MMR-vermittelte Phagozytose nicht an pro-inflammatorische Reaktionen gekoppelt ist. Die Induktion des MMR-Signallings durch verschiedene Anti-MMR Antikörper resultierte in einer Hemmung der Endotoxin-induzierten IL-12-Produktion [31] sowie in einer Stimulation der IL-10 Produktion und folglich einer T-Zell-Anergie [32].

Scavenger Rezeptoren nehmen an einem weiteren nicht-inflammatorischen Aufnahme-Prozess der Makrophagen – der Phagozytose von apoptotischen Zellen – teil. Die Aufnahme von apoptotischen Zellen durch Makrophagen wird von einer aktiven Suppression der Entzündung begleitet. Der erste Prozess beinhaltet die Suppression der TNF α -Sekretion und die Rezeptor-getriggerte Freisetzung von TGF- β , PGE2 und PAF [33,34]. Die autokrine/parakrine Modulation der Makrophagen Zelltötungsaktivität und die Aufnahme apoptotischer Zellen wird durch die Senkung der Nitritoxygen (NO)-Produktion und die Erhöhung der CD95L Expression charakterisiert. Die Rezeptoren für apoptotische Zellen auf Makrophagen sind CD36, SR-A, CD68, Lox-1, CD93, und CD91 [35–39]. Phosphatidylserin (PS) wird hochspezifisch auf der Oberfläche von apoptotischen Zellen präsentiert und spielt eine Hauptrolle bei der antiinflammatorischen Aufnahme von apoptotischen Zellen. Der PS-Rezeptor wird von Makrophagen exprimiert und bindet das auf der Oberfläche apoptotischer Zellen präsentierte PS. Die darauffolgende Phagozytose stimuliert die TGF-beta Produktion bei Makrophagen [40].

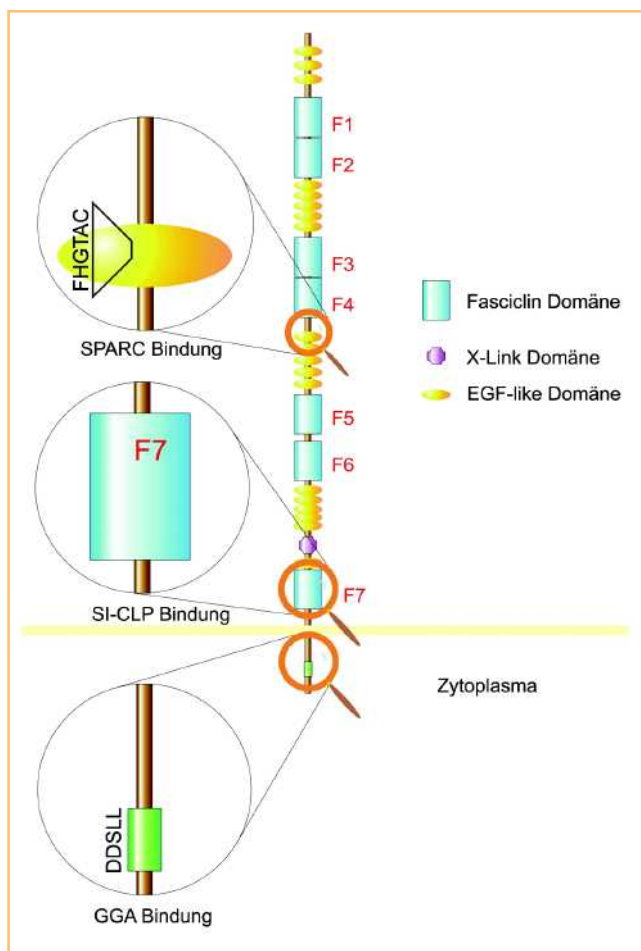


Abb. 2 Domänen von Stabilin-1, die in die Erkennung von Liganden involviert sind [44]. Das große extrazelluläre Fragment von Stabilin-1 setzt sich aus sieben Fasciclin-Domänen (blaue Zylinder F1-F7) und multiplen EGF-ähnlichen Domänen (gelbe Ovale) zusammen. Die Link-Domäne ist in pink dargestellt. SPARC bindet an die EGF-ähnliche Domäne, die zwischen F4 und F5 lokalisiert ist. Die FHGTAC-Sequenz wurde mittels „phage display“ als SPARC-bindendes Peptid identifiziert. SI-CLP bindet an F7. Der kurze zytoplasmatische Anteil beinhaltet die DDSLL Sequenz, die für die Bindung an die intrazellulären Sortierungsadaptoren GGA1, GGA2 und GGA3L verantwortlich ist.

Stabilin-1 – neuer Scavenger Rezeptor der alternativ aktivierten Makrophagen

Identifikation und Expressionsanalyse

Humanes Stabilin-1, wurde ursprünglich von Goerdts et al. als MS-1 Antigen identifiziert [41]. Der monoklonale MS-1-Antikörper wurde wegen seiner immunhistologischen Reaktivität mit Cadherin-negativem, nicht-kontinuierlichem Sinusoidendothel der Milz ausgewählt. Unter Verwendung des MS-1 Antikörpers wurde das MS-1 Antigen aufgereinigt [42]. Das nach Trypsin-Verdau des MS-1 Antigens erhaltene MALDI TOF MS Chromatogramm erlaubte die Identifikation entsprechender Peptidsequenzen und nachfolgend einer partiellen cDNA. Unter Verwendung von 3' und 5'-RACE generierten wir eine cDNA in gesamter Länge. Northern Blot Analysen zeigten eine selektive Expression der cDNA in Geweben mit nicht kontinuierlichen Endothelzellen (Milz, Leber, Lymphknoten) und in alternativ aktivierten Makrophagen *in vitro*. Diese Daten korrelierten sehr gut mit den Resultaten der vorhergehenden immunochemischen Ergebnisse und

bestätigten die Identität der MS-1 cDNA und des MS-1 Antigens [42]. In einem weiteren Schritt wurde ein polyklonaler Kaninchen-Antikörper (F4) gegen den GST-fusionierten zytoplasmatischen Teil von Stabilin-1 generiert. Dieser F4-Antikörper erkannte in der Doppelimmunfluoreszenz ein gleiches Muster wie der MS-1 Antikörper und bestätigte die Identität von klonierter Stabilin-1-cDNA und MS-1-Antigen [42].

Bioinformatische Analysen der cDNA Sequenzen zeigten, dass Stabilin-1 ein Typ I Transmembranprotein mit Clustern von EGF-ähnlichen Domänen (Zell/Matrix Interaktionen), Fasciclin-Domänen (homotypische Adhäsion) und mit einer X-link-Domäne (Hyaluronsäurebindung) ist (Abb. 2). Parallel zur Stabilin-1 cDNA wurde ein homologes Protein – Stabilin-2 – geklont. Stabilin-2 stellte sich dabei als der wesentliche Hyaluronsäurerezeptor der hepatischen sinusoidalen Endothelzellen heraus [42, 43]. Stabilin-1 und Stabilin-2 sind auf der Proteinebene zu 55% identisch, zeigen aber keine signifikante DNA-Homologie. Die C-terminalen Teile der beiden Stabiline zeigen die größten Unterschiede. Stabilin-2 zeigt ein klassisches Tyrosin-basiertes endosomales Sortierungssignal, während Stabilin-1 ein spezielles Sortierungsmotiv auf LL-Basis aufweist [42, 43].

Ausführliche Analysen von menschlichen Geweben wurden unter Verwendung des MS-1 Antikörpers durchgeführt. Stabilin-1 wurde primär in zwei Zelltypen exprimiert: in Gewebsmakrophagen und in nichtkontinuierlichen Endothelzellen (ECs) [44]. Ausgedehnte immunhistochemische Studien zeigten die spezifische Expression von menschlichem Stabilin-1 in sinusoidalen ECs der Milz, der Leber und der Nebennierenrinde. Studien, die von uns und anderen Gruppen unter Verwendung verschiedener Antikörper durchgeführt wurden, zeigten eine Expression von Stabilin-1 auf menschlichen Blutgefäßen unter verschiedenen Bedingungen: Wundheilung, Tumovaskularisierung, chronische Entzündungen der Haut, wie z. B. Psoriasis [45, 46].

In vivo im menschlichen Körper wird Stabilin-1 in Makrophagen in Haut, Darm, Herz, Lymphknoten und der Plazenta exprimiert [41, 44, 47–49]. Stabilin-1 wird als selektiver Marker von kutanen Non-Langerhans-Zell-Histiozytosen benutzt [50, 51]. Im Mausmodell des Melanoms wurden Stabilin-1 positive Makrophagen an der Tumorperipherie gefunden [52]. In humanen Monozyten/Makrophagen-Kulturen konnte Stabilin-1 unter der Stimulation mit IL-4 in Kombination mit Dexamethason oder durch Dexamethason allein (alternativ-aktivierte Makrophagen) nachgewiesen werden, während IFN γ einen negativen Effekt auf die Stabilin-1 Expression zeigte [42, 45]. *In vivo* wurde Stabilin-1 als spezifischer Marker für alternativ aktivierte Makrophagen verwendet [2, 3].

Stabilin-1: intrazelluläre Lokalisation und Endozytose des aCLDs

Die Identität von Stabilin-1 als Oberflächen-Rezeptor war längere Zeit umstritten, da bestimmte Daten auf eine vorwiegende Lokalisation in intrazellulären Vesikeln, besonders Makrophagen hinzuweisen schienen. FACS Analysen mit gesteigerter Sensitivität lieferten uns die Anhaltspunkte dafür, dass kleine Mengen von Stabilin-1 auf der Oberfläche von alternativ aktivierten Makrophagen vorhanden sind [53]. Der erste Weg der Stabilin-1-Wanderung ist der klassische für Endozytoserezeptoren. Stabilin-1 wurde vornehmlich in EEA1-positiven frühen Endosomen (Early Endosome Antigen 1) gefunden und in geringerem Maße in späten Endosomen. Unter Verwendung von Fluoreszenz-markiertem Transferrin konnten wir zeigen, dass ein Teil

des Stabilin-1 recycelt wird und wieder an der Zelloberfläche erscheint.

Viele der klassischen Scavenger-Rezeptoren, die von Makrophagen exprimiert werden, wurden durch ihr Repertoire an überlappenden Liganden charakterisiert [23]. Ursprünglich wurden SRs durch ihre Fähigkeit definiert, modifizierte Lipoproteine zu endozytieren (zusammengefasst in [24]). Makrophagen exprimieren eine Palette von SRs, die an modifizierte Formen von LDL, wie zum Beispiel oxLDL und acetyliertem (ac)LDL binden, diese internalisieren und degradieren können. Wir wählten CHO Zellen, die keinen Scavenger Rezeptor für acLDL (inklusive Stabilin-1) exprimieren und verwendeten sie für eine stabile ektope Expression von Stabilin-1, um den spezifischen Beitrag bei der Aufnahme von acLDL zu analysieren [54]. FACS Analysen und Konfokalmikroskopie zeigten, dass stabil exprimiertes Stabilin-1 als effektiver Endozytose-rezeptor für acLDL in CHO Zellen fungiert. Minuten nach Zugabe des Liganden wurde das acLDL mittels Stabilin-1 in die EEA1 positiven frühen Endosomen transportiert. Nach weiteren 30 Minuten wurde das acLDL in EEA1-negative späte Endosomen transportiert, in denen die Stabilin-1 Konzentration viel niedriger war als in den frühen Endosomen.

CHO-Zellen wurden auch als experimentelles System verwendet, um die Notwendigkeit der PI3K-Aktivität für die Stabilin-1-vermittelte Endozytose zu untersuchen. Weiterhin konnten wir zeigen, dass Stabilin-1 veranlasste Weiterführung von acLDL in den Lysosomen-prädestinierten endozytären Signaltransduktionsweg PI3K Aktivität benötigt [54]. Klasse III PI3K ist verantwortlich für die Produktion von Phosphatidylinositol-3-Phosphat (PtdIns(3)P) [55,56], dieses wurde primär in Membranen der frühen Endosomen sowie in internen Vesikeln von multivesikulären Endosomen in Säugerzellen gefunden [57,58]. Membran-inkorporiertes PtdIns(3)P wird von FYVE-Domänen-beinhaltenen Proteinen und sortierenden Nexinen erkannt. Diese Erkennung wird für die Rab-5-abhängige endosomale Fusion und einen vesikulären Transport benötigt [59,60]. Die Hemmung der PI3K bewirkte eine Unterbrechung des Stabilin-1-vermittelten Transports von acLDL vom frühen/sorting endosomalen Kompartiment zu den späten Endosomen und schließlich zu den Lysosomen. Diese Ergebnisse bestätigen, dass Stabilin-1 wie andere Endozytose-Rezeptoren die Aufnahme extrazellulärer Liganden und ihren Weitertransport zu Endosomen und Lysosomen vermittelt.

Neue Funktion der alternativ aktivierten Makrophagen: Stabilin-1 vermittelte Endozytose von SPARC

Das Glykoprotein SPARC („secreted protein acidic and rich in cysteine“, auch bekannt als Osteonectin und BM-40) ist eine lösliche, nicht-strukturelle Komponente der extrazellulären Matrix (ECM). SPARC ist ein entscheidender Regulator von Entwicklungsprozessen, Gewebeumbau, Angiogenese, Wundheilung und Tumoraggressivität [61–66]. Im malignen Melanom wurden vielfältige Funktionen von SPARC gezeigt, die die aktive Modulation des Aufbaus der ECM („Extracellular matrix“), die Bindung von Wachstumsfaktoren und die Induktion des anti-adhäsiven Zustandes in verschiedenen Zelltypen beinhalten [61,64,67]. Trotz der vielseitigen Effekte von SPARC in der embryonalen Entwicklung und in der Pathogenese verschiedener Krankheitszustände blieben die SPARC-spezifischen Rezeptoren für über zwei Jahrzehnte unbekannt. In Zusammenarbeit mit Dr. E. H. Sage ist es uns gelungen Stabilin-1 als Rezeptor für

SPARC mittels der „Phage display“ Technologie zu identifizieren [68] (Abb. 2).

Es konnte gezeigt werden, dass Stabilin-1 die Bindung, die Internalisierung und den Transport von SPARC zu den Endosomen vermittelt. In stabil mit Stabilin-1 transfizierten CHO-Zellen konnte gezeigt werden, dass acLDL mit SPARC um die Internalisierung via Stabilin-1 konkurriert. In primären humanen Makrophagen konnte nachgewiesen werden, dass die Expression von Stabilin-1 eine Voraussetzung für die rezeptorvermittelte Aufnahme von SPARC darstellt. Nur alternativ aktivierte Makrophagen, die mit einer Kombination von IL-4 und Dexamethason stimuliert wurden, konnten SPARC endozytieren. Parallele Endozytose-Experimente mit acLDL und SPARC in alternativ aktivierten Makrophagen zeigten, dass beide Liganden entlang des Endozytosewegs zu den Lysosomen transportiert werden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Stabilin-1 als hochspezifischer und effektiver Rezeptor von Makrophagen die Internalisierung von extrazellulärem SPARC und seinen Weitertransport zu den Lysosomen vermittelt. Sowohl SPARC als auch Stabilin-1 werden in normalen differenzierten Geweben als auch in der Plazenta exprimiert. Unter pathologischen Bedingungen werden SPARC und auch Stabilin-1 bei erhöhter ECM-Produktion und/oder bei erhöhtem zellulären Umsatz hochreguliert [63]. SPARC wird zudem von Endothelzellen, Fibroblasten und Makrophagen in vivo während der Wundheilung und bei Fremdkörperreaktionen sowie während der Angiogenese produziert [62,69,70]. Komplexe biologische Aktivitäten von SPARC haben für die Tumorprogression tumor-spezifische Effekte. Einerseits unterstützt SPARC Aggressivität und Metastasen des Melanoms [71–73] und die Invasivität von Gliomen [74]. Andererseits reduziert SPARC die Aggressivität von Brustkrebs [75].

Unter den gegebenen vielfältigen Aktivitäten und biochemischen Interaktionen, an denen SPARC teilnimmt, scheint es offensichtlich, dass ein Mechanismus für die zeitliche Regulation der SPARC-Konzentration im Extrazellulärraum benötigt wird. Stabilin-1 könnte tatsächlich diese regulatorischen Funktionen erfüllen.

Makrophagen regulieren die Gewebemöostase sowie inflammatorische und anti-inflammatorische Reaktionen einerseits durch die Sekretion, andererseits aber auch durch die Aufnahme und den Abbau von extrazellulär vorhandenen Mediatoren. Die selektive Aufnahme von speziellen Proteinliganden wird durch spezielle kombinatorische Muster der Scavenger-Rezeptor-Expression auf ortsständigen Makrophagen oder neu rekrutierten sich differenzierenden Monozyten erreicht. Unsere Daten führen zu der Hypothese, dass Makrophagen dadurch zur Abheilung von Entzündungen beitragen und die Angiogenese fördern, dass sie die extrazelluläre Konzentration von SPARC durch Aufnahme aus dem extrazellulären Milieu regulieren. Hierdurch wird offenbar die Konzentration von SPARC an die jeweiligen physiologischen und pathologischen Zustände im Gewebe angepasst. In Tumoren könnte der Makrophagen-vermittelte SPARC-Abbau zwei entgegengesetzte Rollen spielen. Für maligne Melanome bedeutet die Verringerung der SPARC-Konzentration einen hemmenden Effekt für Melanomzellen-Invasivität. Für Brustkrebs hingegen hätte der SPARC-Abbau einen stimulierenden Effekt. Weitere Untersuchungen an Tiermodellen werden benötigt, um diese Hypothesen zu prüfen.

Stabilin-1 positive M2_{IL-4/Dex}-Makrophagen, jedoch nicht pro-inflammatorische Makrophagen, sind in der Lage, eine effektive Aufnahme von SPARC zu vermitteln. Dieser Prozess deutet auf die spezielle Rolle, die M2 während der Wundheilung, Aufrech-

terhaltung der Homöostase und auch in Tumoren spielen, hin. Weiterhin konnten wir zeigen, dass Dexamethason die Produktion von Matrixmetalloproteasen und Gewebetransglutaminase mit IL-4 stimulierten Makrophagen hemmt [7]. Interessanterweise wird der Einbau von SPARC in die ECM durch Gewebstransglutaminase vermittelt [45]. Überdies wird SPARC durch Stromelysin-1 (Matrixmetalloprotease-3) abgebaut. So entstehen bioaktive SPARC-Peptide, die verschiedene Aspekte der Angiogenese beeinflussen [76]. Es ist daher anzunehmen, dass M2 der SPARC-induzierten Modifikation der ECM durch Herabregulierung der Enzyme, die als Substrat für SPARC dienen, entgegenwirken. Zusammen mit der Stabilin-1-vermittelten Endozytose und der Regulation der Expression von Enzymen, die die Aktivität von SPARC beeinflussen, entsteht ein komplexer makrophagenspezifischer Mechanismus zur Modulation der biologischen Aktivität von SPARC.

Stabilin-1: intrazelluläre Sortierungsfunktion in alternativ-aktivierten Makrophagen

Die Funktion von Stabilin-1 in alternativ aktivierten Makrophagen ist jedoch nicht auf die rezeptorvermittelte Endozytose von extrazellulären Liganden beschränkt [44, 53, 77]. Die Interaktionen von Stabilin-1 mit den GGA-Adaptoren und der „Shuttle“ von Stabilin-1 zwischen den Endosomen und dem Trans-Golgi-Netzwerk deuten darauf hin, dass Stabilin-1 intrazelluläre Sortierungsfunktionen in Makrophagen wahrnehmen könnte, ähnlich den ubiquitär exprimierten Mannose-6-Phosphat-Rezeptoren [78–83].

GGAs: Adaptoren intrazellulärer Sortierung

Die GGA (Golgi-localised, gamma-ear containing, Arf-binding) Proteine sind eine Familie von ubiquitär exprimierten ARF-abhängigen monomeren Clathrinadaptoren. Es gibt drei GGAs beim Menschen (GGA1, GGA2 and GGA3), zwei in der Hefe (Gga1 and Gga2), und jeweils eines in *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila melanogaster*. Eine der bemerkenswertesten Eigenschaften der GGAs ist ihre konservative Domänenorganisation. Sie bestehen alle aus drei gefalteten Domänen die als VHS (Vps27, Hrs, Stam), GAT (GGA und TOM (target of myb)) und GAE (g-adaptin ear) bezeichnet werden [84–88]. Das „Hinge Segment“ ist downstream der GAT-Domäne lokalisiert und vermittelt die Bindung von Säuge- und Hefe-GGAs an Clathrin. Die „Hinge Segmente“ von GGA1 und GGA3 enthalten DXXLL-Typ-Sequenzen, die an ihre entsprechende VHS-Domäne binden und die Autoinhibition der GGA-Aktivität vermitteln. Die GAE-Domäne der GGA interagiert mit spezifischen zusätzlichen Proteinen, wie z. B. γ -Synergine, p56 und Rababin-5. Diese Interaktion wird benötigt, um eine effiziente Anordnung der „coated pits“ auf der Membran des späten Golgi-Kompartiments zu erzielen. Die am besten untersuchte Funktion der GGAs ist die Sortierung des Mannose-6-Phosphat-Rezeptors zwischen dem Trans-Golgi Netzwerk (TGN) und dem endosomal/lysosomalen System [89]. Die VHS Domäne der GGAs interagiert spezifisch mit der Doppel-Leuzin enthaltenden Sequenz im zytoplasmatischen Ende von CI-MPR und CD-MPR. Kationenabhängige und Kationenunabhängige Mannose-6-Phosphat-Rezeptoren (CI-MPR und CD-MPR) sind für die Lieferung von neu synthetisierten löslichen Hydrolasen vom Golgi-Kompartiment zu den endosomalen Kompartimenten und anschließend zu den Lysosomen verantwortlich [78, 79, 82, 83, 90, 91]. Sowohl CI-MPR als auch CD-MPR

vermitteln die Rekrutierung der lysosomalen Hydrolasen an die „Clathrin-coated“ Bereiche des TGN. Von diesen Bereichen liefern Trägervesikel die MPR Hydrolase-Komplexe an die Endosomen. Der saure pH-Wert der Endosomen induziert die Freisetzung der Hydrolasen von den MPRs. Danach wird die Hydrolase zu den Lysosomen transportiert. Die MPRs gelangen von den endosomalen Kompartimenten wieder zurück zum TGN, um eine neue Runde von Liganderkennung und Sortierung zu durchlaufen. Alle drei Säugetier GGAs, GGA1, GGA2 und GGA3 arbeiten während der Sortierung von MPRs zusammen und werden für die Erhaltung der TGN-Struktur benötigt [82].

Stabilin-1 und GGA

Stabilin-1 wurde unerwarteter Weise auch im sekundären vesikulären Weg gefunden. Unter Verwendung von doppelter Immunfluoreszenz konnte Stabilin-1 in TGN (Trans-Golgi Netzwerk) nachgewiesen werden; seine gleichzeitige Abwesenheit im Golgiapparat zeigten, dass die Lokalisation von Stabilin-1 im TGN nicht durch Akkumulation von frisch synthetisiertem Stabilin-1 zustande kam [53]. Die Behandlung von Makrophagen mit Brefeldin A induzierte die Akkumulation von Stabilin-1 im TGN sowie die Entleerung aus frühen Endosomen, was auf einen Stabilin-1 Shuttle zwischen dem endosomalen System und den biosynthetischen Kompartimenten hinweist. Bei der Analyse der intrazellulären Sortierungsmechanismen von Stabilin-1 fanden wir heraus, dass die zytoplasmatische Domäne von Stabilin-1 mit GGAs in Wechselwirkung tritt. Mittels affinitäts-chromatographischer in vitro Analyse haben wir gezeigt, dass DDSLL Sequenz für die Interaktion zwischen zytoplasmatischem Ende von Stabilin-1 und GGA1, GGA2 und GGA3L zuständig ist. Anschließend wurde Stabilin-1 zusammen mit endogenen GGA2 und GGA3 in TGN-Strukturen alternativ-aktivierter Makrophagen (M2_{IL-4/Dex}) mithilfe der Immunofluoreszenz/Konfokalmikroskopie-Analyse gefunden.

Wie oben beschrieben fungieren GGAs sowohl als Clathrin-Adaptoren intrazellulärer Sortierungsprozesse des Mannose-6-Phosphat Rezeptors als auch anderer „cargo-carriers“ [82, 83, 89]. Die doppelte Rolle von CI-MPR beinhaltet zum einen die Rezeptor-gesteuerte Endozytose des „Insulin-Like Growth Factor-II“, und zum anderen die Sortierung von neu synthetisierten lysosomalen Hydrolasen vom Golgi Kompartiment zu den späten Endosomen, gefolgt vom Transport zu den Lysosomen [82, 83]. Ähnlich wird der Shuttle von Stabilin-1 zwischen den biosynthetischen und endosomal/lysosomalen Kompartimenten in Makrophagen von GGAs vermittelt, welche an das DDSLL Motiv am zytoplasmatischen Ende binden [53] und Stabilin-1 in das trans-Golgi Netzwerk lokalisieren. Im Gegensatz zu universell exprimiertem CI-CMR ist Stabilin-1 hoch spezifisch für M2-Makrophagen. Somit kann man Stabilin-1 als ersten Zelltyp-spezifischen Rezeptor mit dualer Funktion in Endozytose und intrazellulären Sortierungsprozessen betrachten.

Stabilin-1 sortiert SI-CLP in alternativ-aktivierten Makrophagen

Auf der Suche nach Liganden, die durch Stabilin-1 von den biosynthetischen zu den endosomalen/sekretorischen Kompartimenten transportiert werden, haben wir mittels Yeast Two-Hybrid-Screening das neue humane Chitinase-ähnliche Protein SI-CLP (Stabilin-1 Interacting Chitinase-Like Protein) entdeckt [77]. Die Analysen des Domänenaufbaus von SI-CLP zeigten, dass der weitaus größte Teil des Proteins eine Glyco₁₈ Domäne umfasst (● **Abb. 3**). Diese Domäne ist hoch spezifisch für Chiti-

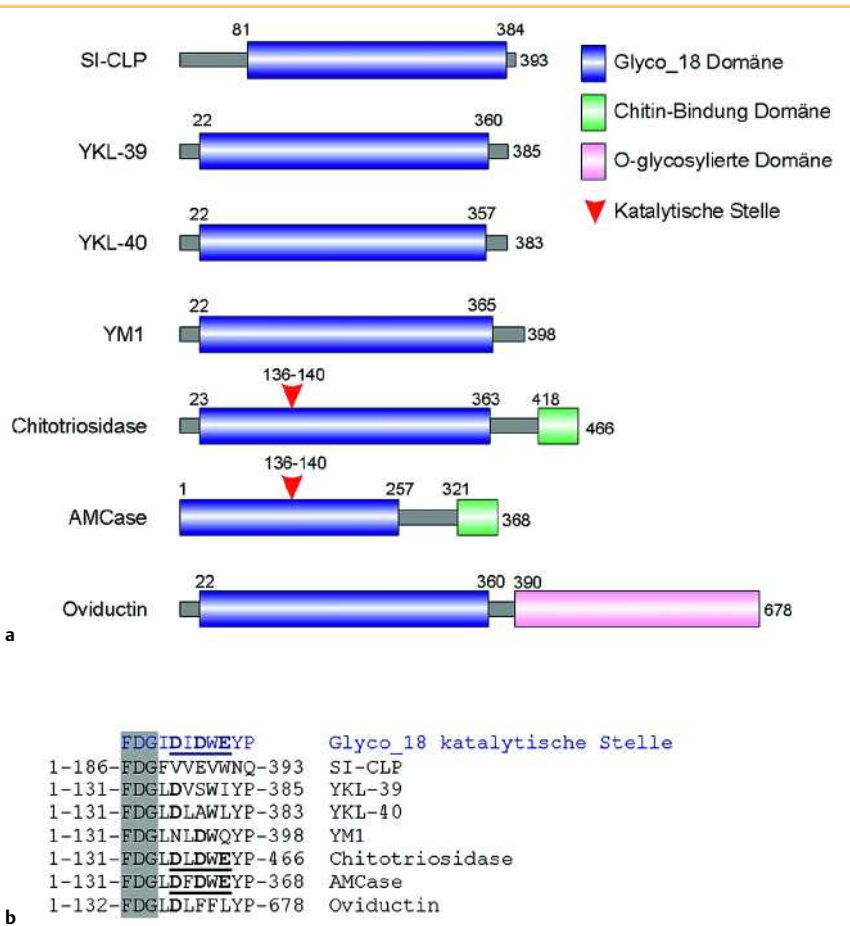


Abb. 3 SI-CLP ist ein neues Mitglied der Familie der Proteine mit Glyco_18-Domänen. **a** Schematische Präsentation der Domänenstruktur von Glyco_18-Domänen-Proteinen. **b** Die kritischen Aminosäuren der katalytischen Stelle. Die charakteristische FDG-Sequenz ist als Box gezeigt. Die katalytischen Aminosäuren sind fett markiert. Die komplette katalytische Stelle ist unterstrichen. Die Forschungsergebnisse waren ursprünglich in Kzhyshkowska J et al. Novel stabilin-1 interacting chitinase-like protein (SI-CLP) is up-regulated in alternatively activated macrophages and secreted via lysosomal pathway. Blood 2006; 107: 3221–3228. © The American Society of Hematology [77] publiziert.

nasen, die zur Familie der 18 Glycosylhydrolasen gehören, die in Bakterien, Pflanzen, Pilzen, Insekten, Viren, protozoischen Parasiten [92] und in Säugetieren gefunden wurden [93–96]. Proteine mit einer Glyco_18 Domäne sind ebenfalls in höheren Eukaryonten vertreten. Bis jetzt sind fünf menschliche Proteine mit einer Glyco_18 Domäne identifiziert. Zu ihnen gehören die Chitotriosidasen AMCase, YKL-39, YKL-40 und Oviductin/MUC9, zudem die nahe verwandten Proteine YM1 und YM2, die in Nagetieren gefunden wurden. Eine vergleichende Analyse des Domänenaufbaus von SI-CLP mit anderen in Säugetieren vorkommenden Proteinen mit einer Glyco_18 Domäne ist in **Abb. 3** dargestellt. SI-CLP (sowie YKL-39, YKL-40, und YM1/YM2) enthalten Glyco_18 Domänen, aber im Gegensatz zu Chitotriosidasen und AMCase keine Chitin-Bindungsdomäne (**Abb. 3a**). Oviductin/MUC9 enthält eine Glyco_18 Domäne und ein für Muzine charakteristisches großes Fragment mit vielen Stellen für eine O-Glykosylierung. Die katalytische Aktivität der Glyco_18 Domäne wird durch die Anwesenheit einer katalytischen Glutaminsäure im Zusammenhang mit dem DXDXE Motivs bestimmt. Dieses DXDXE Motiv ist mit einer Aminosäure Abstand direkt neben dem charakteristischen Aminosäure Triplet FDG lokalisiert ist (**Abb. 3b**). Chitotriosidasen und AMCasen sind echte Chitinasen mit einem klassischen katalytischen Zentrum, enzymatischer Aktivität und der Fähigkeit, über ihre C-terminale Chitin-Bindungsdomäne Chitin zu binden, während YKL-39, YKL-40, YM1/YM2 und Oviductin die kritischen Aminosäuren an der katalytischen Stelle fehlen (**Abb. 3b**) und diese keine enzymatische Aktivität zeigen [97].

Intrazelluläre Lokalisationsstudien in Stabilin-1-positiven Makrophagen zeigen, dass SI-CLP in Lamp1-positive und sekretorische CD63-positive Lysosomen sortiert wird. Der lysosomale Transport von SI-CLP scheint sich vom MPR-vermittelten Weg zu unterscheiden, möglicherweise aufgrund des Fehlens der typischen N-Glykosylierung von lysosomalen Enzymen [98]. Verschiedene Beweise stützen die Hypothese, dass Stabilin-1 ein hochspezifischer intrazellulärer Sortierungsrezeptor („cargo carrier“) für SI-CLP ist. SI-CLP bindet direkt an Stabilin-1 und kolo-kalisiert mit Stabilin-1 im TGN in M2_{IL-4/Dex}. SI-CLP wird stark vermindert in Lysosomen von M2_{IL-4/Dex} gefunden, die mit Stabilin-1 siRNA transfiziert wurden und damit eine geringere Expression von Stabilin-1 aufweisen. Außerdem vermittelt Stabilin-1 die Relokalisation von rekombinantem SI-CLP-FLAG in H1299 Zellen, in denen SI-CLP ohne zusätzliche Transfektion mit Stabilin-1 nukleär fehlsortiert wird. Die lysosomale Lokalisation von SI-CLP in Stabilin-1-negativen Makrophagen deutet allerdings darauf hin, dass Stabilin-1 nicht der einzige Rezeptor ist, der den intrazellulären Transport von neu synthetisiertem SI-CLP vermitteln kann.

Die Fähigkeit von Dexamethason, die Sekretion von SI-CLP zu blockieren, bestätigt zusätzlich, dass die Sekretion von SI-CLP über einen lysosomalen Weg reguliert wird [99,100]. **Abb. 4** zeigt eine schematische Darstellung des intrazellulären Transportwegs von Stabilin-1 in Makrophagen. **Abb. 2** fasst den derzeitigen biochemischen Kenntnisstand über die Domänen von Stabilin-1 zusammen, die in die Erkennung von Liganden involviert sind.

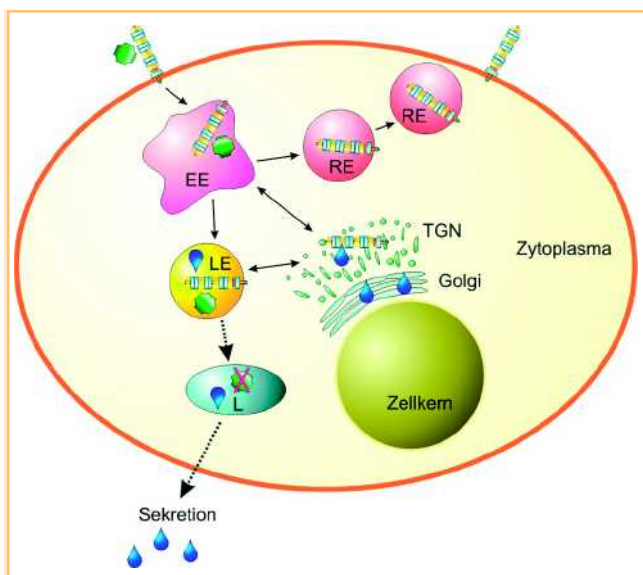


Abb. 4 Intrazelluläre Transportwege von Stabilin-1 in Makrophagen [44]. Nach der Bindung an Oberflächen-exprimiertes Stabilin-1, wird der Ligand (in grün dargestellt) internalisiert und in frühe/sorting Endosomen (EE) transportiert. Ein Teil des Rezeptors wird zurück auf die Zelloberfläche über Recycling-Endosomen (RE) transportiert. Stabilin-1 überführt seinen Liganden zu den späten Endosomen (LE). Kein Stabilin-1 konnte bisher in Lamp-1-positiven Lysosomen gefunden werden. Dies zeigt, dass Stabilin-1 von seinen Liganden in den späten Endosomen dissoziiert wird. Endozytische Liganden werden des Weiteren in Lysosomen (L) degradiert. Stabilin-1 ist beteiligt am intrazellulären Sortierungsprozess. Stabilin-1 bewegt sich zwischen endosomalem und biosynthetischem Kompartiment und transportiert neu-synthetisierte Liganden (dunkelblau), sodass diese den lysosomalen Sekretionsweg benutzen können.

Makrophagen als Hauptproduktionsquelle für Chitinase und Chitinase-ähnliche Proteine

Mehrere der Proteine mit einer Glyco_18 Domäne werden von Makrophagen produziert und sezerniert (Chitotriosidase, AMCase, YKL-40, and YM1) [95,101 – 103]. Außerdem kommen Glyco_18-Domän-Proteine in Neutrophilen, Epithelzellen, Chondrozyten, Synovialzellen und Tumorzellen vor [136]. Chitotriosidase und AMCase sind aktive Enzyme, die Chitin hydrolysieren und eine C-terminale Chitin-Bindungsdomäne besitzen [93,95,96]. YKL-40, YKL-39, SI-CLP und Maus-YM1/2-Proteine besitzen lediglich eine Glyco_18 Domäne ohne hydrolytische Aktivität [94,104]. Chitotriosidase wird in lipidbeladenen Makrophagen überproduziert und ist der Hauptmarker für die angeborene lysosomale Speicherkrankheit Morbus Gaucher, die durch alternative Makrophagenaktivierung charakterisiert ist [105]. Chitotriosidase wird zudem während der späten Makrophagendifferenzierung gesunder Spender vermehrt produziert [94 – 96]. YKL-40 wurde als Marker für die Makrophagendifferenzierung beschrieben [106], wohingegen YM1 in gesundem Gewebe in Mausmakrophagen nachgewiesen wurde [107], aber auch in der Th2 polarisierten Immunantwort nach Kontakt mit einem Allergen oder Parasiten [103,108 – 110]. Erhöhte Mengen von YKL-40 im Serum und in den Lungen korrelieren mit der Schwere von Asthma [111]. Es konnte zudem gezeigt werden, dass die AMCase von alternativ-aktivierten Makrophagen im Mausmodell der Th2-assoziierten allergischen Reaktion produziert wird. Humane AMCase wurde im Zusammenhang mit allergischem Asthma gefunden [112]. In ähnlicher Weise konnten wir eine Erhöhung der SI-

CLP-Produktion in alternativ-aktivierten Makrophagen *in vitro* nachweisen, die mit IL-4 und Dexamethason stimuliert wurden. YKL-39 und YKL-40 haben hinsichtlich der Glyco_18-Domäne die größte Ähnlichkeit mit SI-CLP. Wir haben getestet ob Th1- und Th2-Zytokine und Dexamethason die Expression von YKL-39 oder YKL-40 in humanen Makrophagen beeinflussen. Mittels RT-PCR konnten wir zeigen, dass IFN γ YKL-40 stark hochreguliert. Dexamethason hatte einen stark suppressiven Effekt auf die YKL-40- mRNA-Expression. Eine Stimulation mit IL-4 konnte diesem Effekt nur bedingt entgegenwirken [77]. YKL-39 mRNA wurde in sehr geringem Maße in mit IFN γ , IL-4 und Dexamethason stimulierten Makrophagen-Subpopulationen exprimiert. Die Expression von YKL-39 in humanen Makrophagen wurde allerdings mit Kombination von TGF β und IL-4 stimuliert. Diese kombinierte Stimulation entspricht dem Zytokinprofil in chronischen Entzündungen und einigen Tumoren [137]. Dexamethason inhibierte stark die IL-4+TGF β Stimulation von YKL-39 Produktion in humanen Makrophagen. Wir schlossen daraus, dass SI-CLP das einzige menschliche Protein mit einer Glyco_18 Domäne ist, dessen Expression durch Dexamethason oder IL-4 allein oder in Kombination stimuliert wird, wobei die Stärke der Expression in alternativ aktivierten Makrophagen verschiedener Spender durchaus variiert [77]. Die offene Frage bleibt, wie wirken die Chitinasen und Chitinase-ähnlichen Proteine an der Zell-Aktivität und T-Zell-Differenzierung im menschlichen Körper. Hier gibt es erste Arbeiten, die biologische Aktivitäten der Chitinase-ähnlichen Proteine in *in vitro* experimentellen Modellen aufweisen. Für YKL-40 wurde *in vitro* nachgewiesen dass es als Wachstumsfaktor für Bindegeewebe und als Migrationsfaktor für Endothelzellen und vaskuläre glatte Muskelzellen [113] wirkt, während YM1 *in vitro* Eosinophilenmigration stimuliert [114]. Alle bekannten biologischen und biochemischen Aktivitäten der Chitinasen und Chitinase-ähnlichen Proteine sind in **Tab. 2** zusammengefasst.

Perspektive: SI-CLP als potenzielle Biomarker für Th2-Krankheiten

Menschliche Chitinasen und Chitinase-ähnliche Proteine wurden im Gewebe und der Zirkulation gefunden und können durch nicht invasive Technologien detektiert werden. Die engsten SI-CLP Homologe, YKL-39 und YKL-40, haben diagnostische und prognostische Bedeutung für verschiedene Erkrankungen (Zusammenfassung siehe **Tab. 3**). Das Spektrum der YKL-40-assoziierten Krankheiten korreliert mit dem Makrophagenursprung und der biologischen Aktivität und beinhaltet verschiedene Tumorentitäten, Infektionskrankheiten [115,116], die rheumatoide Arthritis [117], entzündliche Darmerkrankungen [118]), Leberfibrose, Leberzirrhose [119 – 121], und die systemische Sklerose [122].

Erhöhte YKL-40 Werte im Serum korrelieren mit einer schlechten Prognose bei Patienten mit Ovarialkarzinomen [123], Prostatakarzinomen [124], Kolorektalkarzinomen [125], Brustkrebs [126] und Melanom [127,128]. YKL-40 dient ebenfalls als Marker für das Auftreten und den Differenzierungsgrad bei Gliomen [129]. Erhöhte YKL-39 Werte sind mit der rheumatoiden Arthritis [130 – 132] assoziiert. YKL-39 wurde ursprünglich aus Chondrozyten-konditioniertem Medium [104] isoliert und ist bei osteoarthritischen Knorpeldefekten signifikant erhöht [133,134]. Weder für YKL-40 noch für YKL-39 konnten wir eine Stimulation durch Glukokortikoide nachweisen. In dieser Hinsicht ist SI-CLP

Tab. 2 Chitinasen und Chitinase-ähnliche Proteine: biologische Aktivität

	Enzymatische Aktivität	Proliferative Effekte	Effekte auf die Zelladhäsion und Zellmigration	Immunmodulatorische Effekte
Chitotriosidase	Hydrolytische und transglycosylierende Aktivität			
AMCase	Hydrolytische Aktivität			Regulation des IL13-Wirkungen bei Asthma bronchiale
YKL40	keine	Wachstumsfördernder Effekt auf humane Synovialzellen, Haut- und fetale Lungenfibroblasten	Migration, Ausbreitung und Adhäsion an VSMC (Vascular smooth muscle cells)	In gesunden Spendern: Induktion der IL10-Produktion in Monozyten und regulatorischen T-Zellen; Bei Patienten mit rheumatoider Arthritis: Induktion der Th1-Immunantwort; Hemmung der TNF α und IL-1-induzierten Sekretion von MMPs und IL-8 in humanen Hautfibroblasten und Gelenkchondrozyten
YKL-39	keine			Induktion von Autoimmunität [131, 135]
YM1/YM2	keine		Chemotaxis für Eosinophile, T-Zellen und Granulozyten	

Tab. 3 Chitinasen und Chitinase-ähnliche Proteine: Assoziation mit Erkrankungen

	Infektionskrankheiten	Lysosomale Speicherkrankheiten	Chronische Entzündung	Allergien	Tumor-erkrankungen	Leber-erkrankungen	Neurodegenerative Erkrankungen
Chitotriosidase	Pilz- und bakterielle Erkrankungen, Malaria	M. Gaucher; M. Niemann-Pick; M. Fabry	Atherosklerose; Sarkoidose			Nicht alkoholische Fettlebersteatohepatitis (NASH)	Alzheimer Krankheit; ischämische zerebrovaskuläre Demenz
AMCase				Asthma bronchiale			
YKL40	Pneumonie; eitrige Meningitis; E. coli- Endotoxinämie		Atherosklerose; Rheumatoide Arthritis; Sarkoidose; entzündliche Darmerkrankungen	Asthma bronchiale	Diagnostischer und prognostischer Marker für einige solide Tumoren	HCV-induzierte Leberfibrose und -zirrhose und alkoholische Leberzirrhose und -fibrose	
YKL-39			Osteoarthritis; Rheumatoide Arthritis				
SI-CLP				Th2-induzierte Pathologie vermutet			
YM1/YM2	Parasitäre Infektionen in Nagetieren						

ein einmalig reguliertes humanes Chitinase-ähnliches-Protein. Diese einmalige Eigenschaft von SI-CLP macht es zu einem potenziellen Marker für die individuelle Sensitivität von Patienten auf Glukokortikoidtherapie und die Vorhersage der Nebenwirkungen der Glukokortikoidtherapie attraktiv. Der von uns neu generierte monoklonale Rattenantikörper 1C11 gegen SI-CLP detektiert das Protein mit einer hohen Spezifität in menschlichen BAL-Proben sowie in peripheren Blutleukozyten und wird als Werkzeug für die weitere Untersuchung von SI-CLP assoziierten Erkrankungen dienen.

Die Assoziation der Chitinasen und Chitinase-ähnlichen Proteine mit dermatologischen Erkrankungen wurde bis jetzt noch nicht untersucht. Hier könnte das SI-CLP Protein als potenzieller Biomarker für Th2-assoziierte Hauterkrankungen betrachtet werden. Mehrere von uns entwickelte SI-CLP-spezifische Antikörper ermöglichen die immunohistologische Analyse der SI-CLP-Expression im Hautgewebe.

Danksagung

Für die finanzielle Unterstützung danke ich dem Margarete von Wrangell Habilitationsprogramm des Ministeriums für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg, der Dr. Mildred-Scheel-Stiftung und der DFG.

Abstract

The Role of Macrophages in Inflammation and Cancer: New Processes Mediated by Stabilin-1

Macrophages are essential cells for the initiation, progression and modulation of inflammatory reactions. Macrophages control homeostatic balance in healthy tissues. To fulfill their functions, macrophages appear in high amounts in lymph-hematopoietic organs, in differentiated tissues like lung, intestine and skin as well as in placenta. Macrophages use surface molecules and soluble mediators to communicate with other cell types. Alternatively activated macrophages (M2) play a key role in the initiation and regulation of anti-inflammatory processes, induction of healing as well as in tumour progression and metastasis. In vitro alternatively activated macrophages can be induced with Th2 cytokine IL-4 and glucocorticoids. Stabilin-1 is a multidomain protein which is selectively expressed by M2. We were able to show that stabilin-1 is a specific scavenger receptor and has dual function in alternatively activated macrophages: endocytosis and intracellular sorting. Stabilin-1 mediates a new process in M2: internalization for SPARC, a non-structural component of extracellular matrix which functions are critical for the developmental processes, tissue turn-over, angiogenesis, wound-healing and tumor progression. At the same time stabilin-1 functions as intracellular sorting receptor of new chitinase-like protein SI-CLP and delivers it to the lysosomal secretory pathway. Identification of stabilin-1 as a sorting receptor for SI-CLP is a first known example of lysosomal sorting process which is specific for alternatively activated macrophages. Macrophages are the major source for production of human chitinases and chitinase-like protein which are used as biomarkers for different inflammatory disorders and tumours. The newly generated monoclonal rat antibody 1c11 against SI-CLP monoclonal recognizes the protein in tissues and in peripheral blood leukocytes and can be used to search for the association of SI-CLP with diseases. SI-CLP can be also considered as potential marker for the individual sensitivity to glucocorticoids and for prediction of side effects of glucocorticoid-therapy.

Literatur

- Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 23–35
- Goerdts S, Politz O, Schledzewski K et al. Alternative versus classical activation of macrophages. *Pathobiology* 1999; 67: 222–226
- Goerdts S, Orfanos CE. Other functions, other genes: alternative activation of antigen-presenting cells. *Immunity* 1999; 10: 137–142
- Gratchev A, Schledzewski K, Guillot P, Goerdts S. Alternatively activated antigen-presenting cells: molecular repertoire, immune regulation, and healing. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2001; 14: 272–279
- Kodelja V, Muller C, Politz O et al. Alternative macrophage activation-associated CC-chemokine-1, a novel structural homologue of macrophage inflammatory protein-1 alpha with a Th2-associated expression pattern. *J Immunol* 1998; 160: 1411–1418
- Gratchev A, Guillot P, Hakiy N et al. Alternatively activated macrophages differentially express fibronectin and its splice variants and the extracellular matrix protein betaIG-H3. *Scand J Immunol* 2001; 53: 386–392
- Gratchev A, Kzhyshkowska J, Utikal J, Goerdts S. Interleukin-4 and dexamethasone counterregulate extracellular matrix remodelling and phagocytosis in type-2 macrophages. *Scand J Immunol* 2005; 61: 10–17
- Gratchev A, Kzhyshkowska J, Kothe K et al. Mphi1 and Mphi2 can be re-polarized by Th2 or Th1 cytokines, respectively, and respond to exogenous danger signals. *Immunobiology* 2006; 211: 473–486
- Schaer DJ, Boretti FS, Schoedon G, Schaffner A. Induction of the CD163-dependent haemoglobin uptake by macrophages as a novel anti-inflammatory action of glucocorticoids. *Br J Haematol* 2002; 119: 239–243
- Stout RD, Suttles J. Functional plasticity of macrophages: reversible adaptation to changing microenvironments. *J Leukoc Biol* 2004; 76: 509–513
- Mantovani A, Sica A, Sozzani S et al. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol* 2004; 25: 677–686
- Hume DA. The mononuclear phagocyte system. *Curr Opin Immunol* 2006; 18: 49–53
- Stout RD, Suttles J. Functional plasticity of macrophages: reversible adaptation to changing microenvironments. *J Leukoc Biol* 2004; 76: 509–513
- Hayes MP, Wang J, Norcross MA. Regulation of interleukin-12 expression in human monocytes: selective priming by interferon-gamma of lipopolysaccharide-inducible p35 and p40 genes. *Blood* 1995; 86: 646–650
- Herrero C, Hu X, Li WP et al. Reprogramming of IL-10 activity and signaling by IFN-gamma. *J Immunol* 2003; 171: 5034–5041
- Hu X, Herrero C, Li WP et al. Sensitization of IFN-gamma Jak-STAT signaling during macrophage activation. *Nat Immunol* 2002; 3: 859–866
- D'Andrea A, Ma X, Aste-Amezaga M, Paganin C, Trinchieri G. Stimulatory and inhibitory effects of interleukin (IL)-4 and IL-13 on the production of cytokines by human peripheral blood mononuclear cells: priming for IL-12 and tumor necrosis factor alpha production. *J Exp Med* 1995; 181: 537–546
- Major J, Fletcher JE, Hamilton TA. IL-4 pretreatment selectively enhances cytokine and chemokine production in lipopolysaccharide-stimulated mouse peritoneal macrophages. *J Immunol* 2002; 168: 2456–2463
- Anderson CF, Gerber JS, Mosser DM. Modulating macrophage function with IgG immune complexes. *J Endotoxin Res* 2002; 8: 477–481
- Gerber JS, Mosser DM. Reversing lipopolysaccharide toxicity by ligating the macrophage Fc gamma receptors. *J Immunol* 2001; 166: 6861–6868
- Gerber JS, Mosser DM. Stimulatory and inhibitory signals originating from the macrophage Fc gamma receptors. *Microbes Infect* 2001; 3: 131–139
- Grazia CM, Sutterwala FS, Trinchieri G, Mosser DM, Ma X. Suppression of IL-12 transcription in macrophages following Fc gamma receptor ligation. *J Immunol* 2001; 166: 4498–4506
- Peiser L, Mukhopadhyay S, Gordon S. Scavenger receptors in innate immunity. *Curr Opin Immunol* 2002; 14: 123–128
- Greaves DR, Gordon S. Thematic review series: the immune system and atherogenesis. Recent insights into the biology of macrophage scavenger receptors. *J Lipid Res* 2005; 46: 11–20
- Krieger M, Stern DM. Series introduction: multiligand receptors and human disease. *J Clin Invest* 2001; 108: 645–647
- Boullier A, Bird DA, Chang MK et al. Scavenger receptors, oxidized LDL, and atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 947: 214–222
- Gordon S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response. *Cell* 2002; 111: 927–930
- Platt N, Gordon S. Is the class A macrophage scavenger receptor (SR-A) multifunctional? – The mouse's tale. *J Clin Invest* 2001; 108: 649–654
- Taylor PR, Gordon S, Martinez-Pomares L. The mannose receptor: linking homeostasis and immunity through sugar recognition. *Trends Immunol* 2005; 26: 104–110
- Allavena P, Chieppa M, Monti P, Piemonti L. From pattern recognition receptor to regulator of homeostasis: the double-faced macrophage mannose receptor. *Crit Rev Immunol* 2004; 24: 179–192

- 31 Nigou J, Zelle-Rieser C, Gilleron M, Thurnher M, Puzo G. Mannosylated lipoarabinomannans inhibit IL-12 production by human dendritic cells: evidence for a negative signal delivered through the mannose receptor. *J Immunol* 2001; 166: 7477–7485
- 32 Chieppa M, Bianchi G, Doni A et al. Cross-linking of the mannose receptor on monocyte-derived dendritic cells activates an anti-inflammatory immunosuppressive program. *J Immunol* 2003; 171: 4552–4560
- 33 Fadok VA, Bratton DL, Konowal A et al. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. *J Clin Invest* 1998; 101: 890–898
- 34 Serhan CN, Savill J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol* 2005; 6: 1191–1197
- 35 Fadok VA, Bratton DL, Henson PM. Phagocyte receptors for apoptotic cells: recognition, uptake, and consequences. *J Clin Invest* 2001; 108: 957–962
- 36 Ogden CA, deCathelineau A, Hoffmann PR et al. C1q and mannose binding lectin engagement of cell surface calreticulin and CD91 initiates macropinocytosis and uptake of apoptotic cells. *J Exp Med* 2001; 194: 781–795
- 37 Henson PM, Bratton DL, Fadok VA. The phosphatidylserine receptor: a crucial molecular switch? *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 627–633
- 38 Fadok VA, Warner ML, Bratton DL, Henson PM. CD36 is required for phagocytosis of apoptotic cells by human macrophages that use either a phosphatidylserine receptor or the vitronectin receptor (alpha v beta 3). *J Immunol* 1998; 161: 6250–6257
- 39 Norsworthy PJ, Fossati-Jimack L, Cortes-Hernandez J et al. Murine CD93 (C1qRp) contributes to the removal of apoptotic cells in vivo but is not required for C1q-mediated enhancement of phagocytosis. *J Immunol* 2004; 172: 3406–3414
- 40 Huynh ML, Fadok VA, Henson PM. Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF-beta1 secretion and the resolution of inflammation. *J Clin Invest* 2002; 109: 41–50
- 41 Goerdt S, Walsh LJ, Murphy GF, Pober JS. Identification of a novel high molecular weight protein preferentially expressed by sinusoidal endothelial cells in normal human tissues. *J Cell Biol* 1991; 113: 1425–1437
- 42 Politz O, Gratchev A, McCourt PA et al. Stabilin-1 and -2 constitute a novel family of fasciclin-like hyaluronan receptor homologues. *Biochem J* 2002; 362: 155–164
- 43 McCourt PA, Smedsrod BH, Melkko J, Johansson S. Characterization of a hyaluronan receptor on rat sinusoidal liver endothelial cells and its functional relationship to scavenger receptors. *Hepatology* 1999; 30: 1276–1286
- 44 Kzhyshkowska J, Gratchev A, Goerdt S. Stabilin-1, a homeostatic scavenger receptor with multiple functions. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 635–649
- 45 Goerdt S, Bhardwaj R, Sorg C. Inducible expression of MS-1 high-molecular-weight protein by endothelial cells of continuous origin and by dendritic cells/macrophages in vivo and in vitro. *Am J Pathol* 1993; 142: 1409–1422
- 46 Salmi M, Koskinen K, Henttinen T, Elima K, Jalkanen S. CLEVER-1 mediates lymphocyte transmigration through vascular and lymphatic endothelium. *Blood* 2004; 104: 3849–3857
- 47 Walsh LJ, Goerdt S, Pober JS, Sueki H, Murphy GF. MS-1 sinusoidal endothelial antigen is expressed by factor XIIIa+, HLA-DR+ dermal perivascular dendritic cells. *Lab Invest* 1991; 65: 732–741
- 48 Cupurdija K, Azzola D, Hainz U et al. Macrophages of Human First Trimester Decidua Express Markers Associated to Alternative Activation. *Am J Reprod Immunol* 2004; 51: 117–122
- 49 Prevo R, Banerji S, Ni J, Jackson DG. Rapid plasma membrane-endosomal trafficking of the lymph node sinus and high endothelial venule scavenger receptor/homing receptor stabilin-1 (FEEL-1/CLEVER-1). *J Biol Chem* 2004; 279: 52580–52592
- 50 Goerdt S, Bonsmann G, Sunderkotter C et al. A unique non-Langerhans cell histiocytosis with some features of generalized eruptive histiocytoma. *J Am Acad Dermatol* 1994; 31: 322–326
- 51 Utikal J, Klemke CD, Gratchev A, Goerdt S. Cutaneous non-Langerhans cell histiocytoses. *J Dtsch Dermatol Ges* 2003; 1: 471–491
- 52 Schledzewski K, Falkowski M, Moldenhauer G et al. Lymphatic endothelium-specific hyaluronan receptor LYVE-1 is expressed by stabilin-1(+), F4/80(+), CD11b(+) macrophages in malignant tumours and wound healing tissue in vivo and in bone marrow cultures in vitro: implications for the assessment of lymphangiogenesis. *J Pathol* 2006; 209: 67–77
- 53 Kzhyshkowska J, Gratchev A, Martens JH et al. Stabilin-1 localizes to endosomes and the trans-Golgi network in human macrophages and interacts with GGA adaptors. *J Leukoc Biol* 2004; 76: 1151–1161
- 54 Kzhyshkowska J, Gratchev A, Brundiers H et al. Phosphatidylinositol 3-kinase activity is required for stabilin-1-mediated endosomal transport of acLDL. *Immunobiology* 2005; 210: 161–173
- 55 Katso R, Okkenhaug K, Ahmadi K et al. Cellular function of phosphoinositide 3-kinases: implications for development, homeostasis, and cancer. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17: 615–675
- 56 Foster FM, Traer CJ, Abraham SM, Fry MJ. The phosphoinositide (PI) 3-kinase family. *J Cell Sci* 2003; 116: 3037–3040
- 57 Gillooly DJ, Morrow IC, Lindsay M et al. Localization of phosphatidylinositol 3-phosphate in yeast and mammalian cells. *EMBO J* 2000; 19: 4577–4588
- 58 Lemmon MA. Phosphoinositide recognition domains. *Traffic* 2003; 4: 201–213
- 59 Zerial M, McBride H. Rab proteins as membrane organizers. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 107–117
- 60 Simonsen A, Lippe R, Christoforidis S et al. EEA1 links PI(3)K function to Rab5 regulation of endosome fusion. *Nature* 1998; 394: 494–498
- 61 Bradshaw AD, Sage EH. SPARC, a matricellular protein that functions in cellular differentiation and tissue response to injury. *J Clin Invest* 2001; 107: 1049–1054
- 62 Bradshaw AD, Reed MJ, Sage EH. SPARC-null mice exhibit accelerated cutaneous wound closure. *J Histochem Cytochem* 2002; 50: 1–10
- 63 Brekken RA, Sage EH. SPARC, a matricellular protein: at the crossroads of cell-matrix communication. *Matrix Biol* 2001; 19: 816–827
- 64 Framson PE, Sage EH. SPARC and tumor growth: where the seed meets the soil? *J Cell Biochem* 2004; 92: 679–690
- 65 Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Brekken RA et al. Enhanced expression of SPARC/osteonectin in the tumor-associated stroma of non-small cell lung cancer is correlated with markers of hypoxia/acidity and with poor prognosis of patients. *Cancer Res* 2003; 63: 5376–5380
- 66 Yan Q, Sage EH. SPARC, a matricellular glycoprotein with important biological functions. *J Histochem Cytochem* 1999; 47: 1495–1506
- 67 Murphy-Ullrich JE. The de-adhesive activity of matricellular proteins: is intermediate cell adhesion an adaptive state? *J Clin Invest* 2001; 107: 785–790
- 68 Kzhyshkowska J, Workman G, Cardo-Vila M et al. Novel function of alternatively activated macrophages: Stabilin-1-mediated clearance of SPARC. *J Immunol* 2006; 176: 5825–5832
- 69 Barker TH, Framson P, Puolakkainen PA et al. Matricellular homologs in the foreign body response: hevin suppresses inflammation, but hevin and SPARC together diminish angiogenesis. *Am J Pathol* 2005; 166: 923–933
- 70 Iruela-Arispe ML, Lane TF, Redmond D et al. Expression of SPARC during development of the chicken chorioallantoic membrane: evidence for regulated proteolysis in vivo. *Mol Biol Cell* 1995; 6: 327–343
- 71 Massi D, Franchi A, Borgognoni L, Reali UM, Santucci M. Osteonectin expression correlates with clinical outcome in thin cutaneous malignant melanomas. *Hum Pathol* 1999; 30: 339–344
- 72 Robert G, Gaggioli C, Bailet O et al. SPARC represses E-cadherin and induces mesenchymal transition during melanoma development. *Cancer Res* 2006; 66: 7516–7523
- 73 Prada F, Benedetti LG, Bravo AI et al. SPARC endogenous level, rather than fibroblast-produced SPARC or stroma reorganization induced by SPARC, is responsible for melanoma cell growth. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 2618–2628
- 74 Schultz C, Lemke N, Ge S, Golembieski WA, Rempel SA. Secreted protein acidic and rich in cysteine promotes glioma invasion and delays tumor growth in vivo. *Cancer Res* 2002; 62: 6270–6277
- 75 Koblinski JE, Kaplan-Singer BR, VanOsdol SJ et al. Endogenous osteonectin/SPARC/BM-40 expression inhibits MDA-MB-231 breast cancer cell metastasis. *Cancer Res* 2005; 65: 7370–7377
- 76 Sage EH, Reed M, Funk SE et al. Cleavage of the matricellular protein SPARC by matrix metalloproteinase 3 produces polypeptides that influence angiogenesis. *J Biol Chem* 2003; 278: 37849–37857
- 77 Kzhyshkowska J, Mamidi S, Gratchev A et al. Novel stabilin-1 interacting chitinase-like protein (SI-CLP) is up-regulated in alternatively activated macrophages and secreted via lysosomal pathway. *Blood* 2006; 107: 3221–3228

- 78 Kornfeld S. Trafficking of lysosomal enzymes in normal and disease states. *J Clin Invest* 1986; 77: 1–6
- 79 Kornfeld S, Mellman I. The biogenesis of lysosomes. *Annu Rev Cell Biol* 1989; 5: 483–525
- 80 Jadot M, Canfield WM, Gregory W, Kornfeld S. Characterization of the signal for rapid internalization of the bovine mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor-II receptor. *J Biol Chem* 1992; 267: 11069–11077
- 81 Traub LM, Kornfeld S. The trans-Golgi network: a late secretory sorting station. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 527–533
- 82 Ghosh P, Griffith J, Geuze HJ, Kornfeld S. Mammalian GGAs act together to sort mannose 6-phosphate receptors. *J Cell Biol* 2003; 163: 755–766
- 83 Ghosh P, Dahms NM, Kornfeld S. Mannose 6-phosphate receptors: new twists in the tale. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 202–212
- 84 Nakayama K, Wakatsuki S. The structure and function of GGAs, the traffic controllers at the TGN sorting crossroads. *Cell Struct Funct* 2003; 28: 431–442
- 85 Shiba T, Kawasaki M, Takatsu H et al. Molecular mechanism of membrane recruitment of GGA by ARF in lysosomal protein transport. *Nat Struct Biol* 2003; 10: 386–393
- 86 Nogi T, Shiba Y, Kawasaki M et al. Structural basis for the accessory protein recruitment by the gamma-adaptin ear domain. *Nat Struct Biol* 2002; 9: 527–531
- 87 Takatsu H, Yoshino K, Toda K, Nakayama K. GGA proteins associate with Golgi membranes through interaction between their GGAH domains and ADP-ribosylation factors. *Biochem J* 2002; 365: 369–378
- 88 Bonifacino JS. The GGA proteins: adaptors on the move. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 23–32
- 89 Puertollano R, Aguilar RC, Gorshkova I, Crouch RJ, Bonifacino JS. Sorting of mannose 6-phosphate receptors mediated by the GGAs. *Science* 2001; 292: 1712–1716
- 90 Doray B, Ghosh P, Griffith J, Geuze HJ, Kornfeld S. Cooperation of GGAs and AP-1 in packaging MPRs at the trans-Golgi network. *Science* 2002; 297: 1700–1703
- 91 Zhu Y, Doray B, Poussu A, Lehto VP, Kornfeld S. Binding of GGA2 to the lysosomal enzyme sorting motif of the mannose 6-phosphate receptor. *Science* 2001; 292: 1716–1718
- 92 Sasaki C, Yokoyama A, Itoh Y et al. Comparative study of the reaction mechanism of family 18 chitinases from plants and microbes. *J Biochem (Tokyo)* 2002; 131: 557–564
- 93 Boot RG, Blommaert EF, Swart E et al. Identification of a novel acidic mammalian chitinase distinct from chitotriosidase. *J Biol Chem* 2001; 276: 6770–6778
- 94 Renkema GH, Boot RG, Au FL et al. Chitotriosidase, a chitinase, and the 39-kDa human cartilage glycoprotein, a chitin-binding lectin, are homologues of family 18 glycosyl hydrolases secreted by human macrophages. *Eur J Biochem* 1998; 251: 504–509
- 95 Boot RG, Renkema GH, Strijland A, vanZonneveld AJ, Aerts JM. Cloning of a cDNA encoding chitotriosidase, a human chitinase produced by macrophages. *J Biol Chem* 1995; 270: 26252–26256
- 96 Renkema GH, Boot RG, Muijsers AO, Donker-Koopman WE, Aerts JM. Purification and characterization of human chitotriosidase, a novel member of the chitinase family of proteins. *J Biol Chem* 1995; 270: 2198–2202
- 97 Fusetti F, Moeller H von, Houston D et al. Structure of human chitotriosidase. Implications for specific inhibitor design and function of mammalian chitinase-like lectins. *J Biol Chem* 2002; 277: 25537–25544
- 98 Renkema GH, Boot RG, Strijland A et al. Synthesis, sorting, and processing into distinct isoforms of human macrophage chitotriosidase. *Eur J Biochem* 1997; 244: 279–285
- 99 Sundler R. Lysosomal and cytosolic pH as regulators of exocytosis in mouse macrophages. *Acta Physiol Scand* 1997; 161: 553–556
- 100 Naucler C, Sundler R, Tapper H. Dexamethasone lowers cytosolic pH in macrophages by altering alkalizing pH-regulatory mechanisms. *J Leukoc Biol* 2000; 67: 876–884
- 101 Aerts JM, Hollak CE, Boot RG, Groener JE, Maas M. Substrate reduction therapy of glycosphingolipid storage disorders. *J Inher Metab Dis* 2006; 29: 449–456
- 102 Rehli M, Niller HH, Ammon C et al. Transcriptional regulation of CHI3L1, a marker gene for late stages of macrophage differentiation. *J Biol Chem* 2003; 278: 44058–44067
- 103 Welch JS, Escoubet-Lozach L, Sykes DB et al. TH2 cytokines and allergic challenge induce Ym1 expression in macrophages by a STAT6-dependent mechanism. *J Biol Chem* 2002; 277: 42821–42829
- 104 Hu B, Trinh K, Figueira WF, Price PA. Isolation and sequence of a novel human chondrocyte protein related to mammalian members of the chitinase protein family. *J Biol Chem* 1996; 271: 19415–19420
- 105 Boven LA, van Meurs M, Boot RG et al. Gaucher cells demonstrate a distinct macrophage phenotype and resemble alternatively activated macrophages. *Am J Clin Pathol* 2004; 122: 359–369
- 106 Krause SW, Rehli M, Kreutz M et al. Differential screening identifies genetic markers of monocyte to macrophage maturation. *J Leukoc Biol* 1996; 60: 540–545
- 107 Nio J, Fujimoto W, Konno A et al. Cellular expression of murine Ym1 and Ym2, chitinase family proteins, as revealed by in situ hybridization and immunohistochemistry. *Histochem Cell Biol* 2004; 121: 473–482
- 108 Raes G, de Baetselier P, Noel W et al. Differential expression of FIZZ1 and Ym1 in alternatively versus classically activated macrophages. *J Leukoc Biol* 2002; 71: 597–602
- 109 Chang NC, Hung SI, Hwa KY et al. A macrophage protein, Ym1, transiently expressed during inflammation is a novel mammalian lectin. *J Biol Chem* 2001; 276: 17497–17506
- 110 Nair MG, Gallagher IJ, Taylor MD et al. Chitinase and Fizz family members are a generalized feature of nematode infection with selective upregulation of Ym1 and Fizz1 by antigen-presenting cells. *Infect Immun* 2005; 73: 385–394
- 111 Chupp GL, Lee CG, Jarjour N et al. A chitinase-like protein in the lung and circulation of patients with severe asthma. *N Engl J Med* 2007; 357: 2016–2027
- 112 Zhu Z, Zheng T, Homer RJ et al. Acidic mammalian chitinase in asthmatic Th2 inflammation and IL-13 pathway activation. *Science* 2004; 304: 1678–1682
- 113 Nishikawa KC, Millis AJ. gp38k (CHI3L1) is a novel adhesion and migration factor for vascular cells. *Exp Cell Res* 2003; 287: 79–87
- 114 Owhashi M, Arita H, Hayai N. Identification of a novel eosinophil chemotactic cytokine (ECF-L) as a chitinase family protein. *J Biol Chem* 2000; 275: 1279–1286
- 115 Kronborg G, Ostergaard C, Weis N et al. Serum level of YKL-40 is elevated in patients with Streptococcus pneumoniae bacteremia and is associated with the outcome of the disease. *Scand J Infect Dis* 2002; 34: 323–326
- 116 Ostergaard C, Johansen JS, Benfield T, Price PA, Lundgren JD. YKL-40 is elevated in cerebrospinal fluid from patients with purulent meningitis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 598–604
- 117 Steenbakkens PG, Baeten D, Rovers E et al. Localization of MHC class II/human cartilage glycoprotein-39 complexes in synovia of rheumatoid arthritis patients using complex-specific monoclonal antibodies. *J Immunol* 2003; 170: 5719–5727
- 118 Vind I, Johansen JS, Price PA, Munkholm P. Serum YKL-40, a potential new marker of disease activity in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38: 599–605
- 119 Tran A, Benzaken S, Saint-Paul MC et al. Chondrex (YKL-40), a potential new serum fibrosis marker in patients with alcoholic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12: 989–993
- 120 Saitou Y, Shiraki K, Yamanaka Y et al. Noninvasive estimation of liver fibrosis and response to interferon therapy by a serum fibrogenesis marker, YKL-40, in patients with HCV-associated liver disease. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 476–481
- 121 Shackel NA, McGuinness PH, Abbott CA, Gorrell MD, McCaughan GW. Novel differential gene expression in human cirrhosis detected by suppression subtractive hybridization. *Hepatology* 2003; 38: 577–588
- 122 La Montagna G, D'Angelo S, Valentini G. Cross-sectional evaluation of YKL-40 serum concentrations in patients with systemic sclerosis. Relationship with clinical and serological aspects of disease. *J Rheumatol* 2003; 30: 2147–2151
- 123 Hogdall EV, Johansen JS, Kjaer SK et al. High plasma YKL-40 level in patients with ovarian cancer stage III is related to shorter survival. *Oncol Rep* 2003; 10: 1535–1538
- 124 Kucur M, Isman FK, Balci C et al. Serum YKL-40 levels and chitotriosidase activity as potential biomarkers in primary prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Urol Oncol* 2008; 26: 47–52
- 125 Cintin C, Johansen JS, Christensen IJ et al. High serum YKL-40 level after surgery for colorectal carcinoma is related to short survival. *Cancer* 2002; 95: 267–274

- 126 *Jensen BV, Johansen JS, Price PA.* High levels of serum HER-2/neu and YKL-40 independently reflect aggressiveness of metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 4423 – 4434
- 127 *Schmidt H, Johansen JS, Gehl J et al.* Elevated serum level of YKL-40 is an independent prognostic factor for poor survival in patients with metastatic melanoma. *Cancer* 2006; 106: 1130 – 1139
- 128 *Schmidt H, Johansen JS, Sjoegren P et al.* Serum YKL-40 predicts relapse-free and overall survival in patients with American Joint Committee on Cancer stage I and II melanoma. *J Clin Oncol* 2006; 24: 798 – 804
- 129 *Tanwar MK, Gilbert MR, Holland EC.* Gene expression microarray analysis reveals YKL-40 to be a potential serum marker for malignant character in human glioma. *Cancer Res* 2002; 62: 4364 – 4368
- 130 *Sekine T, Masuko-Hongo K, Matsui T et al.* Recognition of YKL-39, a human cartilage related protein, as a target antigen in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 49 – 54
- 131 *Tsuruha J, Masuko-Hongo K, Kato T et al.* Autoimmunity against YKL-39, a human cartilage derived protein, in patients with osteoarthritis. *J Rheumatol* 2002; 29: 1459 – 1466
- 132 *Du H, Masuko-Hongo K, Nakamura H et al.* The prevalence of autoantibodies against cartilage intermediate layer protein, YKL-39, osteopontin, and cyclic citrullinated peptide in patients with early-stage knee osteoarthritis: evidence of a variety of autoimmune processes. *Rheumatol Int* 2005; 26: 35 – 41
- 133 *Steck E, Breit S, Breusch SJ, Axt M, Richter W.* Enhanced expression of the human chitinase 3-like 2 gene (YKL-39) but not chitinase 3-like 1 gene (YKL-40) in osteoarthritic cartilage. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 299: 109 – 115
- 134 *Knorr T, Obermayr F, Bartnik E, Zien A, Aigner T.* YKL-39 (chitinase 3-like protein 2), but not YKL-40 (chitinase 3-like protein 1), is up regulated in osteoarthritic chondrocytes. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 995 – 998
- 135 *Sakata M, Masuko-Hongo K, Tsuruha J et al.* YKL-39, a human cartilage-related protein, induces arthritis in mice. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20: 343 – 350
- 136 *Kzhyshkowska J, Gratchev A, Goerd S.* Human chitinases and chitinase-like proteins as indicators for inflammation and cancer. *Biomarker Insights* 2007; 2: 128 – 146
- 137 *Gratchev A, Schmutzmaier C, Mamidi S, Gooi L, Goerd S, Kzhyshkowska J.* Expression of osteoarthritis marker YKL-39 is stimulated by transforming growth factor beta (TGF-beta) and IL-4 in differentiating macrophages. *Biomarker Insights* 2008; 3: 39 – 44

Buchbesprechung

Hautkrebsprävention. Früherkennung und Vorbeugung

U. Reinhold, E. Breitbart (Hrsg)

Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft, 2007. 200 S., 66 Abb., 23 Tab. Geb. 49,90 €, sFR 93, – ISBN 978-3-89993-754-1

Das Buch zur Hautkrebsprävention ist herausgegeben von Prof. Breitbart, Buxtehude und Prof. Reinhold, Bonn und befasst sich sowohl mit dem Melanom als auch mit den epithelialen Hauttumoren. In den gesammelten Beiträgen haben weitere namhafte Dermatooonkologen bzw. deren Teams aus Mannheim, Regensburg, Tübingen, Homburg, Berlin, Düsseldorf, Wuppertal, Konstanz und Hohenheim mitgearbeitet. Inhaltlich werden die Epidemiologie des Hautkrebses und dessen Vorstufen, Ätiologie und Pathophysiologie, exogene und immunologische Risikofaktoren, hereditäre Syndrome mit Hautkrebsrisiko, Einfluss der Ernährung, Screeningmaßnahmen einschließlich Dermatoskopie und Fluoreszenzdiagnostik, Prävention durch Lichtschutzmittel, durch Textilien, durch Medikamente und durch Tumormarker vorgestellt bzw. in ihrer Wertigkeit diskutiert.

Auch das Aktuellste, z. B. eine objektive Wertung der Radikalfänger findet sich oder der Kenntnisstand zu exogen aufgetragenen UV-Reparaturenzymen. Sehr gut gelungen ist die Wertung der Tumormarker beim Melanom, z. B. S-100, MIA und LDH. Klinische Beispiele machen verständlich, wann welcher Marker Sinn macht. Die Beiträge sind allesamt umfassend im Abhandeln des Themas und dennoch konzentriert – allerdings nicht aus einem Guss. Jeder Beitrag kann auch alleine verstanden werden, ohne dass der Kontext der anderen Beiträge notwendig ist. Liest man sie hintereinander, fällt eine gewisse Redundanz auf. Illustriert wird das Buch mit den notwendigen Tabellen in guter Übersichtlichkeit und den Autorindividuellen Abbildungen und Schemata, die didaktisch hilfreich sind. Das Buch hilft, um auf dem Laufenden in der Hautkrebsprävention zu bleiben.

C. Bayerl, Wiesbaden