

---

## ABSTRACT

Ein Weg zur Erforschung der Biologie der aus vielen unterschiedlichen Zelltypen zusammengesetzten Hypophyse ist die Arbeit mit klonierten Linien nach Isolation der Ausgangszelle. Die aus einem künstlich erzeugten Tumor hervorgegangene  $\alpha$ T3-1-Zelllinie ist dafür ein Beispiel, und es konnte gezeigt werden, daß sie sich hervorragend eignet, um an ihr Aspekte der Biologie gonadotroper Zellen - von einer solchen stammt sie - zu studieren. Anhand von Wachstumsassays mit Bestimmung des DNA-Gehaltes oder der Thymidininkorporation von Kulturen habe ich nach Stoffen gesucht, die auf die serumabhängigen  $\alpha$ T3-1-Zellen eine Wirkung ausüben. Nicht unerwartet stimulierten Steroide, allen voran Östradiol, deren Wachstum. Der Einfluß des Östrogens war durch den Rezeptorantagonisten Keoxifen hemmbar. Zwar führte auch Gonadotropes Releasinghormon allein zu einer - geringer ausgeprägten - Steigerung des Kulturwachstums, doch war es in einer Konzentration von  $10^{-6}$  M auch in der Lage, den Östradioleinfluß ( $10^{-11}$  M) statistisch signifikant zu inhibieren. Möglicherweise läßt sich an  $\alpha$ T3-1-Zellen daher der bekannte antitumoröse Effekt des Hormons weiter erforschen. Eine besonders ausgeprägte - dem Östradiol in etwa vergleichbare - wachstumsstimulierende Wirkung entfaltete auch das erst 1989 entdeckte *Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide*, von dem zwei verschieden lange Varianten, PACAP27 und PACAP38, benannt nach der Anzahl ihrer Aminosäuren, bekannt sind. Sein Einfluß war Anlaß, hier die Mechanismen der intrazellulären Signalübertragung näher zu untersuchen. Schon ohne Zugabe eines Phosphodiesterasehemmers war der cAMP-Spiegel signifikant erhöht, wenn mindestens  $10^{-9}$  M PACAP zugesetzt wurden. PACAP27 und PACAP38 stimulierten die cAMP-Synthese gleichstark und mit statistischer Signifikanz von einer Konzentration von  $10^{-9}$  M an, verglichen mit einer Steigerung der Bildung dieses *Second messengers* durch VIP erst ab  $10^{-7}$  M. Die Aktivierung der Adenylatzyklase durch PACAP erwies sich in weiteren Experimenten als kalziumabhängig. Zwar bestand der Effekt auch in kalziumfreiem Medium, jedoch war der gemessene cAMP-Gehalt in den Kulturen dann deutlich geringer. Umgekehrt war die Kalziumionophore A23187 in der Lage, die Bildung des Signalüberträgers - verglichen mit PACAP allein - noch zu steigern. GnRH setzte in einer Konzentration von  $10^{-7}$  M die PACAP-induzierte cAMP-Produktion der  $\alpha$ T3-1-Zellen herab, und zwar bei allen untersuchten Konzentrationen (bis  $10^{-6}$  M) von PACAP38. Zwar galt für Phorbolmyristoazetat als weiteren Proteinkinase-C-Aktivator Entsprechendes, doch war die durch PMA hervorgerufene Hemmung geringer ausgeprägt und es ergab sich aus weiterführenden Untersuchungen, daß der beobachtete Effekt vermutlich bereits auf der Ebene der G-Proteine vermittelt wird.

---