

Anschrift des Verfassers:

PD Dr. F.D. Berg, I. Frauenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität, Maistraße 11,  
D-W 8000 München 2

### **Die Sterylsulfatase: Finale der Östrogen-Forschung oder Präludium zur Molekularbiologie?**

L. Dibbelt

*Institut für Biochemische Endokrinologie an der Medizinischen Universität zu Lübeck*

Obwohl sich die Anfänge der Sterylsulfatase(STS)-Forschung bis in die späten dreißiger Jahre dieses Jahrhunderts zurückverfolgen lassen (damals wurde Östronsulfat als erster Schwefelsäure-Ester eines Steroids identifiziert und mit Hilfe eines mikrobiellen Enzympräparats hydrolysiert) und bereits in den fünfziger Jahren im Säugetier-Organismus eine membranständige Enzymaktivität beschrieben wurde, die neben Sulfokonjugaten phenolischer Steroide auch solche neutraler Steroide spaltet, erhielt die Erforschung dieses Enzyms erst in den sechziger Jahren starken Auftrieb, als außerordentlich hohe Sterylsulfatase-Aktivitäten in der Plazenta des Menschen gefunden, eine wesentliche physiologische Funktion des Enzyms bei der plazentaren Östrogenbiosynthese nachgewiesen und schließlich eine X-chromosomal vererbte Defizienz der STS-Aktivität entdeckt wurden (Übersicht in 1).

Die eigenen Arbeiten an der plazentaren Sterylsulfatase des Menschen, die Anfang der achtziger Jahre im Laboratorium für Biochemie der I. Frauenklinik der Universität München begannen, beschäftigten sich zunächst ebenfalls mit der Rolle des Enzyms bei der plazentaren Östrogensynthese. Bekanntlich produziert die Plazenta gegen Ende der Schwangerschaft etwa zehnmal mehr Östriol als Östradiol und Östron; untersucht werden sollte, ob die bevorzugte Bildung von Östriol auf eine bevorzugte Hydrolyse des Östriol-Vorläufers 16 $\alpha$ -Hydroxy-Dehydroepiandrosteron-Sulfat gegenüber der Östradiol/Östron-Vorstufe Dehydroepiandrosteron-Sulfat (DHEA-S) durch die plazentare STS

zurückzuführen ist. Zu diesem Zweck wurde ein radiometrischer Sulfatasetest entwickelt, der auf der Verwendung <sup>35</sup>S-markierter Substrate basiert. Mit diesem Test durchgeführte kinetische Messungen an Plazentahomogenaten und daraus hergestellten Membranpräparationen zeigten, daß beide Substrate mit annähernd gleicher Maximalgeschwindigkeit hydrolysiert werden, daß aber DHEA-S mit deutlich höherer Affinität an die Sulfatase bindet als das 16 $\alpha$ -hydroxylierte Derivat. Somit konnte eine präferentielle Hydrolyse von 16 $\alpha$ -Hydroxy-DHEA-S durch die plazentare STS als Ursache der bevorzugten Bildung von Östriol in der Plazenta ausgeschlossen werden (2).

Die weiteren Untersuchungen galten dann der Biochemie und Pathobiochemie der plazentaren STS, die bis dahin nur in ihrer membranständigen Form mit enzymkinetischen Methoden charakterisiert worden war. Mittels Detergentien wurde das Enzym aus seiner festen Membranbindung gelöst (3) und auf chromatographischem Wege bis zur Homogenität gereinigt (4), was gelelektrophoretisch und durch Bestimmung der Aminosäure-Sequenz des N-terminalen Teils des Proteins (5) bestätigt werden konnte. Das Enzympräparat diente dann als Immunogen für die Induktion eines spezifischen polyklonalen Antiserums (4). Mit Western-Blot-Analysen, die an solubilisierten Membranfraktionen aus normalen und STS-defizienten Plazenten ausgeführt wurden, konnte gezeigt werden, daß die Defizienz der Enzymaktivität beim hereditären STS-Mangel auf die Abwesenheit des STS-Proteins zurückzuführen ist (4). Die zelluläre und subzelluläre Lokalisation des Enzyms wurde *in situ* licht- und elektronenmikroskopisch mittels immunocytochemischer Techniken sowie in Membranfraktionen der Plazenta mit biochemischen Methoden untersucht. Immunchemische STS-Aktivität fand sich vor allem im Syncytiotrophoblast, in geringem Ausmaß auch in Endothelzellen der Plazenta, also in Zellen, die in direktem Kontakt mit dem mütterlichen und fetalen Blut stehen. In beiden Zelltypen konnte das Enzym in den Membranen des endoplasmatischen Retikulums nachgewiesen werden, im Syncytiotrophoblast darüber hinaus auch in der cytoplasmatischen Kernmembran, in Endo-

somen, "multivesicular bodies" sowie in der Plasmamembran. Die Sterylsulfatase ist somit in den Membranen zellulärer Kompartimente lokalisiert, die Bestandteile sekretorischer und endocytotischer Transportwege der Zelle sind (6).

Enzymkinetische Messungen an der gereinigten STS, die in Gegenwart verschiedener Substrate und Produkte bzw. deren Analoga durchgeführt wurden, gaben Aufschluß über die Bindungsspezifität des Enzyms, das neben Sulfatestern neutraler und phenolischer Steroide auch Sulfokonjugate nicht-steroidaler Phenole hydrolysiert. Aufgrund der Ergebnisse dieser Messungen sowie weiterer Untersuchungen zur pH-Abhängigkeit der Enzymaktivität und zu ihrer Sensibilität gegenüber Aminosäuren-modifizierenden Reagentien wurde ein Reaktionsmechanismus der Sterylsulfatase postuliert, in dem Histidylgruppen des Enzyms im Rahmen einer generellen Säure-Base-Katalyse an der Hydrolyse des Substrats beteiligt sind. Da bekannte Inhibitoren des Protein-vermittelten Anionentransports die STS-Aktivität mit etwa gleicher Potenz hemmen wie den Membrantransport von Anionen und da das Enzym auch in der Plasmamembran und den Membranen des Endocytose-Weges lokalisiert ist, wurde über eine Beteiligung der Sterylsulfatase an der zellulären Aufnahme von Sterylsulfaten spekuliert (7).

In jüngster Zeit wurden Untersuchungen eingeleitet, die Aufschluß über die Regulation der Expression des STS-Gens geben sollen; dieses Gen ist auf dem kurzen Arm des X-Chromosoms lokalisiert und zeichnet sich dadurch aus, daß es der bei weiblichem Chromosomensatz üblichen Inaktivierung eines der beiden X-Chromosomen teilweise entgeht. Ausgehend von einer verfügbaren cDNA (American Type Culture Collection No. 59322) wurden markierte, zur reifen STS-mRNA komplementäre RNA-Stränge synthetisiert. Mit diesen Sonden soll nun die mRNA der Sterylsulfatase in RNA-Präparationen aus verschiedenen Zellen placentaren Ursprungs nachgewiesen werden. Erste Befunde zeigen, daß Cytotrophoblastzellen während der Primärkultur ebenso wie eine Chorionkarzinom-Zelllinie (JEG) die normale,

aus placentaren Extrakten bekannte STS-mRNA exprimieren, daß aber diese mRNA in anderen Chorionkarzinom-Zelllinien (BeWo, JAR) entweder nicht nachweisbar ist oder strukturelle Veränderungen aufweist, die zu einer geringeren Wanderungsgeschwindigkeit in der Gelelektrophorese führen. Somit könnten diese Zellen als interessante Modelle für das weitere Studium der Regulation der STS-Expression dienen, wobei die Bedeutung dieser Regulation nicht auf die Plazenta beschränkt sein dürfte, da die Sterylsulfatase in niedrigen Konzentrationen ubiquitär im menschlichen Organismus vorkommt und ihre Aktivität in steroidabhängigen Geweben als eine wichtige Determinante der lokalen Konzentration freier und somit biologisch aktiver Steroide gilt.

#### Literatur

- 1 Dibbelt, L., Kuss, E., Zander, J. In: Gynäkologie und Geburtshilfe, Hrsg.: Käser, O., Friedberg, V., Ober, K.G., Thomsen, K., Zander, J. Thieme, Stuttgart, 1987; Band I/1, 4.138-4.167
- 2 Dibbelt, L., Kuss, E. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 1983; 364: 187-191
- 3 Dibbelt, L., Kuss, E. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 1984; 365: 1145-1153
- 4 Dibbelt, L., Kuss, E. Biol. Chem. Hoppe-Seyler 1986; 367: 1223-1229
- 5 Dibbelt, L., Otto, J., Kuss, E. Biol. Chem. Hoppe-Seyler 1989; 370: 847-848
- 6 Dibbelt, L., Herzog, V., Kuss, E. Biol. Chem. Hoppe-Seyler 1989; 370: 1093-1102
- 7 Dibbelt, L., Kuss, E. Biol. Chem. Hoppe-Seyler 1991; 372: 173-185

Anschrift des Verfassers:

Dr. L. Dibbelt, Institut für Biochemische Endokrinologie an der Medizinischen Universität zu Lübeck, Ratzeburger Allee 160, D-W 2400 Lübeck 1