

Functions of NF-kappaB pathway in cutaneous inflammation

Inaugural-Dissertation

Zur

Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität zu Köln

Vorgelegt von

Snehlata Kumari
aus Nawadah, India

Köln, 2011

Berichterstatter:

Prof. Dr. Manolis Pasparakis

Prof. Dr. Thomas Krieg

Tag der mündlichen
Prüfung:

26.01.2012

Summary

The transcription factor NF- κ B is known to be a key regulator of inflammatory processes in different organs. So far, studies into mechanisms of inflammation have mainly focused on functions of NF- κ B in inflammatory cells. Our studies show, that NF- κ B activity in the epithelial cells of the skin, epidermal keratinocytes, is equally important for the regulation of the inflammatory tissue response. Using epidermis-specific deletion mutants of IKK2 (IKK2^{E-KO}), I κ B α (I κ B α ^{E-KO}) as well as RelA (RelA^{E-KO}), we show that both inhibition and activation of NF- κ B signaling in epidermal keratinocytes results in severe skin inflammation. The mechanisms involved in the development of these two inflammatory skin phenotypes, however, show fundamental differences.

Epidermis-specific inhibition of NF- κ B signaling following deletion of IKK2 results in severe psoriasis-like skin inflammation that depends on the presence of myeloid cells in the dermis. We have found that this type of skin inflammation is initiated by early expression of the pathogenic pro-inflammatory cytokine IL-24 in the epidermis. Unexpectedly, we found that the regulation of IL-24 expression in epidermal keratinocytes is mediated by TNF- α and thus identified a so far unknown function of this cytokine. Epidermis-specific deletion of IKK2 does not, however, lead to increased expression of TNF- α , but to a modulation of the response of keratinocytes to TNF- α . This response involves constitutive production of ROS and over-activation of ERK signaling in keratinocytes, which is crucial for the regulation of IL-24 expression.

Epidermis-specific deletion of I κ B α , on the other hand, causes constitutive activation of NF- κ B signaling in epidermal keratinocytes. Interestingly, this also results in severe skin inflammation with a phenotype similar to that of IKK2^{E-KO} mice. The mechanisms leading to this phenotype are, however, fundamentally different from those in IKK2^{E-KO} mice since IL-24 regulation was not observed in the skin of I κ B α ^{E-KO} mice. Instead, we found early up-regulation of expression of osteopontin-1 by epidermal keratinocytes. This shows that both activation and inhibition of NF- κ B signaling in the epidermis can result in similar inflammatory skin phenotypes that develop, however, through different mechanisms.

In addition we have investigated functions of the NF- κ B subunit RelA in the regulation of skin inflammation. We have found that, whereas the absence of RelA from epidermal keratinocytes has no influence on non-specific, croton oil-induced dermatitis, a DNFB- induced DTH response is augmented in RelA^{E-KO} mice. This indicates specific involvement of epidermal RelA in different inflammatory responses of the skin. In addition, we describe a function for RelA in the protection of epidermal keratinocytes from apoptosis.

Our results provide new insights into the role of NF- κ B signaling in epidermal keratinocytes in the development of inflammatory diseases of the skin such as psoriasis as well as conditions that involve apoptosis of epidermal keratinocytes such as the life threatening Lyell syndrome.

Zusammenfassung

Der Transkriptionsfaktor NF- κ B ist ein wichtiger Regulator von Entzündungsprozessen in verschiedenen Organen. Bisherige Studien über Entzündungsmechanismen haben sich vor allem mit seinen Funktionen in Entzündungszellen beschäftigt. Unsere Arbeiten zeigen, dass NF- κ B- Aktivität in den Epithelzellen der Haut, den epidermalen Keratinozyten, ähnlich bedeutend in der Pathogenese von Entzündungserkrankungen der Haut ist. Wir zeigen durch Epidermis- spezifische Deletion von IKK2 (IKK2^{E-KO}), I κ B α (I κ B α ^{E-KO}) und RelA (RelA^{E-KO}), dass sowohl Hemmung als auch konstitutive Aktivierung von NF- κ B in epidermalen Keratinozyten zu stark entzündlichen Hautphänotypen in Mäusen führen. Die Pathomechanismen dieser beiden entzündlichen Erkrankungen sind jedoch grundverschieden.

Epidermis- spezifische Hemmung von NF- κ B- Aktivität durch Deletion von IKK2 resultiert in einer schweren, Psoriasis- artigen Hauterkrankung, deren Entwicklung von der Anwesenheit und Akkumulation von myeloiden Entzündungszellen in der Dermis abhängt. Wir haben gefunden, dass bei dieser Entzündung die frühe Expression von IL-24 in der Epidermis eine wichtige pathogenetische Rolle spielt. Für diese Regulation von IL-24 in den Keratinozyten ist die Expression des Rezeptors für TNF- α auf den epidermalen Keratinozyten erforderlich. Dieses Ergebnis war unerwartet und identifiziert eine bisher nicht bekannte Funktion von TNF- α . Allerdings wird dieser Effekt von TNF- α nicht durch eine Expressionsregulation vermittelt, sondern durch eine veränderte Reaktivität epidermaler Keratinozyten auf ein TNF- α - Signal in Abwesenheit von IKK2. Das TNF- α - Signal resultiert offenbar in der überschießenden Aktivierung von ROS-Produktion und ERK.

Im Gegensatz dazu führt die Epidermis- spezifische Deletion von I κ B α zu einer konstitutiven Aktivierung von NF- κ B in epidermalen Keratinozyten. Das resultiert ebenfalls in einem stark entzündlichen Hautphänotyp ähnlich dem der IKK2^{E-KO}-Mäuse. Diesem Phänotyp liegen jedoch völlig andere pathogenetische Mechanismen zugrunde. In diesen Mäusen findet keine Expressionsregulation von IL-24 in der Epidermis statt, sondern eine frühe vermehrte Expression von Osteopontin. Gemeinsam betrachtet zeigen diese Ergebnisse, dass sowohl Hemmung als auch Aktivierung von NF- κ B in der Epidermis zu ähnlichen entzündlichen Hautphänotypen

führen können, wobei die hierbei ablaufenden pathogenetischen Vorgänge verschieden sind.

Weiterhin haben wir Funktionen der NF- κ B- Untereinheit RelA in der Regulation von Entzündungsprozessen der Haut untersucht. Wir haben gefunden dass, während die Epidermis-spezifische Deletion von RelA keinen Einfluss auf eine unspezifische, durch Croton- Öl induzierte Dermatitis hat, eine durch DNFB induzierte Kontaktdermatitis in RelA^{E-KO}- Mäusen verstärkt abläuft. Dies deutet auf eine spezifische Beteiligung von RelA an bestimmten Entzündungsprozessen der Haut hin. Zusätzlich beschreiben wir hier die anti- apoptotische Funktion von RelA in Epidermiszellen der Haut. Unsere Ergebnisse geben neue Einblicke in die Rolle von NF- κ B bei entzündlichen Hauterkrankungen, wie beispielsweise Psoriasis, und bei Erkrankungen, die mit vermehrter Apoptose epidermaler Keratinozyten einhergehen, wie beispielsweise das lebensbedrohliche Lyell- Syndrom.