Berichte aus der Biologie

Marco Springer

**Effects of the regulators of pigmentation
3-isobutyl-1-methylxanthine, kojic acid and arbutin
on newly developed cocultures and skin equivalents
composed of HaCaT cells and human melanocytes**

D 100 (Diss. Universität Hohenheim)

Shaker Verlag
Aachen 2004

Bibliographic information published by Die Deutsche Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek lists this publication in the Deutsche Nationalbibliografie; detailed bibliographic data is available in the internet at <http://dnb.ddb.de>.

Zugl.: Hohenheim, Univ., Diss., 2004

Copyright Shaker Verlag 2004

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior permission of the publishers.

Printed in Germany.

ISBN 3-8322-2682-6

ISSN 0945-0688

Shaker Verlag GmbH • P.O. BOX 101818 • D-52018 Aachen

Phone: 0049/2407/9596-0 • Telefax: 0049/2407/9596-9

Internet: www.shaker.de • eMail: info@shaker.de

Um Substanzen mit regulierenden Eigenschaften auf die Hautpigmentierung *in vitro* untersuchen zu können, bietet sich ein standardisierbares Testsystem der Haut basierend auf der humanen Keratinozyten-Zelllinie HaCaT an. Die Verwendung dieser Zelllinie würde die Nachteile von gegenwärtig verwendeten Testsystemen auf der Grundlage von phänotypisch sehr variablen humanen Primärkeratinozyten oder der Verwendung von Hautzellen der Maus ausschließen. Das Hauptziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung eines zweidimensionalen (2D) HaCaT-Melanozyten Kokultur-Modells und eines pigmentierten dreidimensionalen (3D) HaCaT-Hautäquivalents, welche jeweils Effekte auf bereits bekannte Regulatoren der Hautpigmentierung zeigen sollten (z.B. Hautbräuner: 3-Isobutyl-1-methylxanthin (IBMX); Skin Lightener: Kojic-Säure, Arbutin).

Zunächst wurde ein neues 2D Kokultur-Modell basierend auf HaCaT-Zellen und humanen primären Melanozyten erfolgreich entwickelt. Diese neue Kokultur ermöglicht die Untersuchung von Regulatoren der Hautpigmentierung durch spektrophotometrische Messung des Gesamtgehalts an Melanin und Änderungen der Melanozyten-Morphologie.

Des Weiteren wurde erfolgreich ein neues pigmentiertes 3D HaCaT-Hautäquivalent entwickelt. Die Herstellungsmethode ermöglichte eine differenzierte mehrschichtige Epidermis und eine vorwiegend basale Lokalisation der Melanozyten innerhalb der Epidermis wie sie auch in der normalen Haut vorkommt. Es konnte erstmalig gezeigt werden, dass mit pigmentierten HaCaT-Hautäquivalenten verschiedene Haut-Phototypen darstellbar sind, jeweils entsprechend des Hautspenders, von welchem die Melanozyten isoliert wurden.

Beide Modelle basieren auf der immortalen humanen Keratinozyten-Zelllinie HaCaT und humanen primären Melanozyten. Die im Rahmen der Modellentwicklung getesteten Regulatoren der Pigmentierung zeigten Effekte auf den Melanin Gehalt und auf die Melanozyten-Morphologie im 2D Kokultur-Modell. Dieselben Regulatoren der Hautpigmentierung zeigten im 3D Hautäquivalent sowohl makroskopische als auch mikroskopische Effekte auf das Pigmentierungssystem der Haut. Sowohl das 2D Kokultur-Modell als auch das 3D Hautäquivalent stellen somit neue und geeignete Möglichkeiten dar, Regulatoren der Hautpigmentierung zu testen.