



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Medizinische Fakultät Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Charakterisierung der Funktion des  
Integrin cytoplasmic domain-associated protein-1  
in Endothelzellen**

Autor: René Michael Brütsch  
Institut / Klinik: Institut für Vaskuläre Biologie und Tumorangiogenese  
Doktorvater: Prof. Dr. med. vet. Hellmut Augustin, PhD

Ein komplexer Vorgang wie die Entwicklung von Blutgefäßen setzt eine feine Regulation verschiedener zellulärer Prozesse voraus. Für das Aussprossen von Gefäßen ist unter anderem die Adhäsion sowie die gerichtete Migration der Zellen von zentraler Bedeutung. ICAP1 kann durch die Bindung an  $\beta_1$ -Integrine die Aktivität der Zellen negativ modulieren und somit Einfluss sowohl auf die Zelladhäsion als auch auf die Zellmigration nehmen. Neben  $\beta_1$ -Integrinen interagiert ICAP1 zudem mit dem Protein CCM1. Mutationen und der daraus resultierende Funktionsverlust von CCM1 sind direkt mit der Entwicklung zerebraler, kaverner Malfomationen assoziiert. Die Bedeutung von ICAP1 in der Pathogenese dieser Erkrankung sowie die generelle Rolle von ICAP1 innerhalb des vaskulären Systems sind unbekannt.

Ziel dieser Arbeit war es, die Effekte einer Dysregulation von ICAP1 auf das funktionelle Verhalten von Endothelzellen zu analysieren und anhand von Expressionsstudien ICAP1-regulierte Gene sowie Interaktionen mit für die Entstehung von Blutgefäßen relevanten Signaltransduktionswegen zu identifizieren. Zur Untersuchung der Funktion von ICAP1 *in vivo* wurden humane Endothelzellen mit vermindertem ICAP1-Expressionsniveau in immunkompromittierte Mäuse transplantiert und das in der Folge etablierte Gefäßnetzwerk analysiert.

Um einen ersten Eindruck über die Funktion von ICAP1 im vaskulären System zu erlangen, wurden zu Beginn die Effekte der Dysregulation von ICAP1 auf zellulärer Ebene untersucht. Die forcierte Expression von ICAP1 steigerte die Motilität von primären, humanen Endothelzellen und förderte zudem die Ausbildung initialer vaskulärer Aussprossungen. Ein weiteres Auswachsen der Gefäßaussprossungen wurde jedoch verhindert, so dass die Expression von ICAP1 letztendlich zu einer Inhibierung der angiogenen Gefäßaussprossung führte. Neben einer Induktion der Zellzyklusinhibitoren p21 und p27 mit einer entsprechend erniedrigten Proliferationsrate der vaskulären Endothelzellen bewirkte die forcierte Expression von ICAP1 einen gewissen Apoptoseschutz. Hingegen steigerte die Herunterregulierung von ICAP1 die angiogene Potenz der Endothelzellen.

Durch Expressionsstudien konnte gezeigt werden, dass ICAP1 mit der Delta-Notch-Signalkaskade interferiert und die durch ICAP1 bedingten Effekte auf eine Induktion des Notch-Signalwegs zurückzuführen sind. So zeigte sich nach forcierter Expression von ICAP1 eine Aktivierung der Notch-Signalkaskade mit erhöhten Mengen an aktivem NOTCH1-Rezeptor und in der Folge eine erhöhte Expression der Notch-Zielgene HEY1, HEY2 und HES5. Die durch die Überexpression von ICAP1 verursachten Effekte konnten durch eine Blockade der Notch-Kaskade aufgehoben werden. Sowohl die durch die forcierte Expression von konstitutiv-aktivem NOTCH1 als auch die durch die Herunterregulierung des Notch-Liganden DLL4 verursachten Effekte entsprachen größtenteils denen der Experimente der ICAP1-Dysregulation. Globale Expressionsstudien (in Zusammenarbeit mit Dipl. Biol. Sven Liebler) zeigten, dass ICAP1 ein durch NOTCH1 reguliertes, genetisches Netzwerk induziert. Ein großer Teil der durch ICAP1 regulierten Gene (76%) waren durch NOTCH1 koreguliert. Weiterführende Analysen ergaben, dass die induzierten Gene vor allem für die Zellproliferation sowie für die Zellmigration von Bedeutung sind und untereinander enge funktionelle Verbindungen aufweisen. ESM1 sowie MMP-10 stellten dabei zwei der am stärksten koregulierten Gene dar.

Die Transplantation von ICAP1-defizienten Endothelzellen in immundefiziente Mäuse bewirkte die Ausbildung eines deutlich dichteren Gefäßnetzwerkes im Sinne einer gesteigerten Angiogenese. Des

Weiteren wiesen die aus den ICAP1-defizienten Zellen gebildeten Gefäßen häufig ein deutlich vergrößertes Lumen auf.

ICAP1 konnte im Rahmen dieser Arbeit als neuer negativer Regulator der Angiogenese und als Induktor der Notch-Signalkaskade identifiziert werden. Weitere Studien müssen prüfen, inwiefern Mutationen von ICAP1 die Pathogenese von zerebralen, kavernösen Malformationen beeinflussen. Ferner sollte untersucht werden, wie sich die Interaktionen von ICAP1 mit seinen Interaktionspartnern auf die Funktion und Aktivität der  $\beta_1$ -Integrine auswirken.