

Julia Christina Leyh
Dr. med.

Untersuchungen zu *Nanotube*-vermittelten Interaktionen bei humanen Mesothelzellen mittels mikrostrukturierter Oberflächen und Mikroinjektionstechnologie

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Vedat Schwenger

Nanotubes (NTs) sind ultrafeine, zwischen zwei oder mehreren Zellen aufgespannte Membrankanäle. Ihr Gerüst besteht aus F-Aktin, wodurch ein Myosin-abhängiger Transport ermöglicht wird. Durch diese tubulären Strukturen können beispielsweise Proteine, Golgi Vesikel oder Mitochondrien von Zelle zu Zelle transportiert werden. Zudem ist ein Transport von viralen Partikeln oder Bakterien auf der Außenseite von NTs bekannt.

NTs wurden zuerst zwischen Phäochromozytomzellen (PC12) beschrieben, mittlerweile sind sie auch bei einer Vielzahl anderer Zelltypen - darunter auch zwischen primären humanen peritonealen Mesothelzellen (HPMCs) - bekannt.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, NTs sowie NT-vermittelte Interaktionen zwischen HPMCs genauer zu untersuchen.

In einem ersten Schritt wurden mittels photolithographischer Verfahren mikrostrukturierte Oberflächen hergestellt, auf denen sich Goldpunkte in definierten Mustern befanden. Um eine Adhäsion der Zellen nur auf den vorgegebenen Goldflächen zu erzielen, wurden an die Goldpunkte auf den Oberflächen IKVAV-Peptide kovalent angebunden. Durch das Kultivieren von HPMCs auf diesen biofunktionalisierten mikrostrukturierten Oberflächen konnte eine selektive räumliche Separierung der Zellen erzielt werden. In einem weiteren Schritt wurden diese mikrostrukturierten Oberflächen herangezogen, um NT-vermittelte Interaktionen mittels hochauflösender 3D-Fluoreszenzmikroskopie zwischen den Zellen zu untersuchen. Es zeigte sich, dass die Kultivierung von HPMCs zu einer nahezu vollständigen Inhibierung der NT-Ausbildung führte.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde die Funktionalität der NTs zwischen den Zellen untersucht. Dazu wurden Mikroinjektionsexperimente durchgeführt, in denen fluoreszenzmarkiertes Dextran in nur eine Zelle eines durch ein NT miteinander verbundenen Zellpaares injiziert wurde. Die Experimente demonstrierten einen Austausch des Farbstoffs von einer zur anderen Zelle und somit eine Funktionalität der NTs zwischen den Zellen.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass zwischen peritonealen Mesothelzellen eine NT-vermittelte funktionale Verbindung besteht. Darüberhinaus zeigten die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse, dass die Vereinzelung der Zellen zu einer signifikanten Verminderung der NT-Ausbildung führt. Aus diesen Ergebnissen schlussfolgern wir, dass die peritoneale Integrität essentiell für die direkte zelluläre Kommunikation ist. Auch wenn die *in-vivo* Relevanz dieser NTs noch nicht definitiv geklärt ist, wird es Ziel zukünftiger Arbeiten sein zu klären, inwieweit sie in Prozesse des interzellulären Stoffaustauschs, z.B. der adaptierten lokalen Immunantwort, involviert sind. Ein besseres Verständnis dieser Mechanismen könnte dazu dienen, therapeutische Strategien hieraus abzuleiten.