

Gudrun Dandekar  
Dr. sc. hum.

## **Untersuchungen zur Expression und Funktion von EphrinB2 in Endothelzellen**

Geboren am 17.12.1971 in Göttingen  
Diplom der Fachrichtung Biologie am 28.11.2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Biochemie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Heiner Schirmer

Die Entstehung von Blutgefäßen ist im erwachsenen Organismus meist mit pathologischen Vorgängen wie beispielsweise dem Tumorwachstum verknüpft. Ein Ansatz der Krebstherapie ist die Inhibition der in den Tumor einsprossenden Blutgefäße, was eine genaue Kenntnis der Vorgänge in der Angiogenese erfordert. Die Aufklärung molekularer Zusammenhänge durch die Grundlagenforschung leistet hierzu einen wichtigen Beitrag.

Im Zentrum dieser Arbeit steht daher die Untersuchung der Regulation und Funktion von EphrinB2 im Blutgefäßsystem. Dieses Protein ist am Prozess der Blutgefäßentstehung zentral beteiligt und wird bei angiogenen Vorgängen wie bei der Tumorangiogenese in Endothelzellen stärker exprimiert. Die selektive Expression von EphrinB2 auf arteriellen Endothelzellen ist genetisch determiniert, kann aber durch Faktoren der Mikroumgebung verändert werden. An Endothelzellen aus humanen Gefäßen wurde in dieser Arbeit gezeigt, dass die *in vivo* beobachtete arteriovenös differenzierte Expression von EphrinB2 in Zellkultur verlorenght. In Zellkultur-Experimenten konnten Faktoren aufgewiesen werden, die die Expression von EphrinB2 in Endothelzellen beeinflussen. Für den Nachweis der EphrinB2-Expression wurden die semi-quantitative RT-PCR und die *in situ*-Hybridisierung etabliert. Ein EphrinB2-induzierender Faktor der arteriellen Mikroumgebung von Endothelzellen sind glatte Muskelzellen, wie anhand von Kokultur-Sphäroiden festgestellt wurde. Die parakrinen Faktoren VEGF und TNF $\alpha$  wurden als gegenläufige Regulatoren der EphrinB2-Expression in Stimulierungsexperimenten gefunden, die gemäß ihrem angiogenen Potential im Sprossungsassay die EphrinB2-Expression regulieren. Dies spricht für einen Zusammenhang der EphrinB2-Regulation mit der Angiogenese.

Im peripheren Blut wurden Rezeptoren von EphrinB2 identifiziert und darauf aufbauend eine neue funktionelle Interaktion von EphrinB2 in Endothelzellen mit Leukozyten festgestellt. Hierfür wurde ein Adhäsionsassay von Leukozyten auf transfizierten Endothelzellen etabliert. Die erhöhte Adhäsion von Leukozyten auf Endothelzellen konnte auf das über EphrinB2 in die Zelle vermittelte Signal zurückgeführt werden.

Bei der Untersuchung der EphrinB2-Expression *in vivo* wurde eine erhöhte Anzahl von EphrinB2-exprimierenden Blutgefäßen in Angiopoietin2-defizienten Mäusen im Vergleich zum Wildtyp aufgezeigt. Dies ist ein erster Hinweis auf eine Verknüpfung des Ephrin/Eph-Systems mit dem Ang/Tie-System, das auch in angiogenen Prozessen eine wichtige Rolle spielt. In verschiedenen murinen Organen erwies sich die EphrinB2-Expression als abhängig vom Gefäßbett. EphrinB2 wurde durchgehend arteriovenös differenziert exprimiert. Seine Expression überlappte

nicht mit seinem Rezeptor EphB4, der vorwiegend im Endothel von Venen exprimiert wird.

In dieser Arbeit konnten Faktoren der Mikroumgebung identifiziert werden, die die Expression von EphrinB2 in Endothelzellen regulieren. Insbesondere eine neue funktionelle Interaktion der EphrinB2-Expression mit Leukozyten konnte aufgezeigt werden. Diese Befunde und die *in vivo*-Daten ermöglichen eine genauere Einordnung der EphrinB2-Expression in die molekularen Zusammenhänge bei der Angiogenese und tragen so zum genaueren Verständnis dieses Vorgangs für therapeutische Ansätze bei.