



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

**Intercellular junctional complexes of liver sinusoidal endothelium:
organ-specific composition and characterization of the novel
junctional protein LEDA-1**

Autor: Konstantin Evdokimov
Institut / Klinik: Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Doktorvater: Prof. Dr. S. Goerd

Blutgefäßendothelien weisen eine hohe Plastizität und funktionelle Heterogenität auf, die besonders an der bemerkenswerten morphologischen Vielfalt organ-spezifischer Endothelien Subtypen deutlich wird. Die Endothelzellen der Lebersinusoiden (LSECs) unterscheiden sich von Endothelzellen anderer Organe durch ihre hohe Permeabilität, das Vorhandensein zahlreicher Fenestrations sowie das Fehlen einer kontinuierlichen Basalmembran. Im Gegensatz zu Endothelzellen anderer Kapillarbetten sind die junctionalen Komplexe zwischen LSECs, die die Permeabilität und die Migration der Leukozyten sowie metastasierender Tumorzellen durch die Gefäßwand der Lebersinusoiden beeinflussen, hinsichtlich ihrer molekularen Struktur nicht ausreichend charakterisiert. Des Weiteren exprimieren LSECs ein neues, uncharakterisiertes Molekül, LEDA-1. Hierbei handelt es sich um ein Protein mit Homologie zu Adherens Junction-Associated Protein (AJAP)-1. Während die Rolle von AJAP-1 in der Regulation von epithelialen adherens junctions (AJs) beschrieben ist, gab es bisher keine Untersuchungen zu LEDA-1 und seiner Rolle in Junctionen. Das Ziel dieser Doktorarbeit lag daher darin, den molekularen Aufbau der interzellulären Junctionen von LSECs zu definieren und hierbei die grundlegenden biologischen und biochemischen Eigenschaften des neu in LSECs identifizierten Proteins LEDA-1 zu charakterisieren.

Mittels Immunfluoreszenz und Transkriptom-Analyse konnte gezeigt werden, dass LSECs interzelluläre Junctionen vom sogenannten „mixed-type“ bilden. Sie enthalten die typischen Proteine der endothelialen AJs: VE-Cadherin, Catenine (α -, β -, γ -, und p120) sowie die fakultativen AJs Moleküle ZO-1 und ZO-2. Claudin-5 und Occludin hingegen, die typischen Komponenten endothelialer tight junctions, fehlen nachweisbar in LSECs, während die Mitglieder der JAM-Familie, JAM-A, -B, und -C, differentiell exprimiert werden. Diese Besonderheiten unterscheiden die junctionalen Komplexe im Lebersinusoidendothel von den interzellulären Junctionen des kontinuierlichen Blutgefäßendothels.

Des Weiteren wurde LEDA-1 ausführlich hinsichtlich seiner subzellulären Lokalisation untersucht. In transgenen LEDA-1 exprimierenden epithelialen Zelllinien wurde LEDA-1 an der basolateralen Plasmamembran nachgewiesen. Das bestätigt die Vermutung, dass LEDA-1 in interzellulären Junctionen vorliegt. Die dynamische Regulation der Funktionen der interzellulären Junctionen beruht auf Protein-Protein-Interaktionen. Diesbzgl. konnten mittels bioinformatischer Analysen wichtige Aminosäuren-Motive einschließlich eines C-terminalen PDZ-bindenden Motivs in LEDA-1 identifiziert werden. Mittels Immunoblots wurde zudem eine ausgeprägte post-translationale Prozessierung von LEDA-1 nachgewiesen, bei der O-Glykosylierung und Sialidierung eine große Rolle spielen. Die Vielzahl der durch die Prozessierung entstandenen Formen von LEDA-1 lässt vermuten, dass LEDA-1 in vielfältige Funktionen und regulatorische Prozesse involviert ist. Diese Annahme wird zudem dadurch unterstützt, dass LEDA-1 nicht nur in Endothelzellen, sondern auch in neuronalen und/oder glialen Zellen bestimmter Gehirnregionen gefunden wurde.

Zusammenfassend zeigt die vorliegende Arbeit, dass die Endothelzellen der Lebersinusoiden interzelluläre Junctionen ausbilden, die eine einzigartige molekulare Zusammensetzung aufweisen. Diese spezialisierten junctionalen Komplexe könnten einen maßgeblichen Beitrag zu den Funktionen von LSECs leisten, indem sie sich an der Regulation der Permeabilität und der Zellmigration beteiligen. Zudem zeigt die Arbeit, dass das Protein LEDA-1 in Adherens Junctions lokalisiert und biochemisch durch extensive posttranslationale Modifikation gekennzeichnet ist. Weitere Studien müssen zeigen, welche Funktionen LEDA-1 und seine mannigfaltigen prozessierten Formen im einzelnen in den Lebersinusoiden, aber auch in anderen Organen und Zellen, z.B. im Gehirn, ausüben.