

Carla Sens

Dr. sc. hum.

## Die Rolle verschiedener Fibronektin-Isoformen im Knochen

Einrichtung: Immunologie

Doktorvater: Prof. Dr. Michael Kirschfink

Mit dem demografischen Wandel nimmt die Problematik altersbedingter Krankheiten wie der Osteoporose zu. Eine Osteoporose kann aber auch als Co-Morbidität anderer Krankheiten auftreten, wobei eine häufige Form die hepatische Osteodystrophie ist. Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe konnten zeigen, dass bei Patienten mit primärer biliärer Zirrhose eine bestimmte Fibronektin-Isoform, das onkofötale Fibronektin (oFN), im Blut dieser Patienten negativ mit dem osteoblastischen Marker Osteokalzin korreliert und oFN die Osteoblasten *in vitro* und *in vivo* inhibiert. Andere Vorarbeiten zeigten, dass das zirkulierende Plasmafibronektin die Integrität der Knochenmatrix gewährleistet und dass das endogene Fibronektin der Osteoblasten, welches die Extra-Domäne A (EDA) und B (EDB) beinhaltet, deren Differenzierung beeinflusst. Im Rahmen dieser Arbeit sollten der Wirkmechanismus des oFN sowie die Funktion des osteoblastischen Fibronektins in Bezug auf die Differenzierung von Osteoblasten charakterisiert werden, um neue Ansatzpunkte für mögliche Therapien identifizieren zu können.

Es konnte herausgefunden werden, dass eine bestimmte O-Glykosylierung an der AS33 der Variablen Region des Fibronektins die inhibierende Wirkung des oFN auf die Osteoblastendifferenzierung vermittelt, wobei die Aktivierung des Integrins  $\alpha\beta 1$  verhindert wird und es zu einer verminderten Osteoblastendifferenzierung kommt. Dieser Effekt konnte *in vitro* durch Modulation der Interaktion des Integrins  $\alpha\beta 1$  mit oFN durch einen Antikörper gegen das Integrin  $\alpha 4$  oder ein Peptid, welches das Integrin  $\alpha\beta 1$  bindet, verhindert werden. Ebenso konnte die Behandlung von Mäusen mit diesem Antikörper oder diesem Peptid die negative Wirkung von oFN auf die Osteoblasten und den damit assoziierten Verlust der Knochendichte *in vivo* aufheben. In einem Mausmodell der hepatischen Osteodystrophie war oFN in fibrotischen Mäusen erhöht und korrelierte negativ mit der trabekulären und gesamten Knochendichte. Auch in diesem Modell konnte durch die Behandlung mit dem Integrin  $\alpha 4$  Antikörper oder dem Integrin  $\alpha\beta 1$  bindenden Peptid durch eine Erhöhung der Osteoblastenzahl sowie einer Verbesserung ihrer Funktion dem Verlust der Knochendichte trotz fortschreitender Fibrose entgegengewirkt werden.

Da bei Abwesenheit des endogenen Fibronektins die Differenzierung von Osteoblasten beeinträchtigt ist und diese EDA- und EDB-haltiges Fibronektin produzieren, wurde die Funktion dieser beiden Fibronektin-Isoformen untersucht. Durch eine Reihe von *in vitro* Experimenten konnte gezeigt werden, dass sowohl EDA- als auch EDB-haltiges Fibronektin die Differenzierung von Osteoblasten stimuliert. Der positive Einfluss von EDA-haltigem Fibronektin auf die Osteoblasten konnte außerdem *in vivo* bestätigt werden. EDA- und EDB-haltiges Fibronektin vermitteln ihre Effekte allerdings über unterschiedliche Rezeptoren. So stimuliert EDA-haltiges Fibronektin die Osteoblasten über das Integrin  $\alpha\beta 1$ , wohingegen das EDB-haltige Fibronektin seinen Effekt auf die Differenzierung über das Integrin  $\beta 3$  vermittelt. Dabei ist die RGD-Sequenz des EDB-haltigen Fibronektins essentiell.

Es konnte somit der Einfluss von verschiedenen Fibronectin-Isoformen auf die Osteoblasten näher charakterisiert werden. Dabei konnten auch zwei Integrine identifiziert werden, deren Aktivierung die Differenzierung der Osteoblasten unterstützt. Zum einen zeigte die Modulation des Integrins  $\alpha 4\beta 1$  vielversprechende Ergebnisse im Kontext der hepatischen Osteodystrophie und zum anderen könnte die Stimulation sowohl des Integrins  $\alpha 4\beta 1$  als auch des Integrins  $\beta 3$  für Behandlung der Osteoporose in Betracht gezogen werden.