

Simone Müller
Dr. med.

Die Rolle des angiogenen Faktors AGGF-1 (Angiogenic factor with G-patch and forkhead-associated domains 1) in Endothelzellen und glatten Gefäßmuskelzellen im Rahmen der Angiogenese

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: apl. Prof. Dr. med. Emmanuel Chorianopoulos

In der vorliegenden Arbeit wurde die Rolle des Angiogenic factor with G-patch and forkhead-associated domains 1 (AGGF-1) im Rahmen der Angiogenese in Zellen, die entscheidend an der Entstehung und Ausbildung von Gefäßen mitwirken - Endothelzellen und glatte Gefäßmuskelzellen -, näher charakterisiert und erörtert. Ein Schwerpunkt der Arbeit lag darin, die bisher unbekannt biologischen und funktionellen Eigenschaften sowie die molekularen Hintergründe des AGGF-1 in muralen Zellen zu untersuchen und mit seinen bereits teilweise bekannten Eigenschaften, Wirkweisen und Funktionen in Endothelzellen zu vergleichen.

Es wurde zum ersten Mal gezeigt, dass glatte Gefäßmuskelzellen aus arteriellen Gefäßen AGGF-1 nativ und in gleicher Weise wie Endothelzellen aus venösen Gefäßen exprimieren und perinukleär akkumulieren. Es wurde dargestellt, dass die physiologischen Expressionsmuster von AGGF-1 sich in verschiedenen murinen Geweben unterscheiden und eine erhöhte native Expression des Faktors insbesondere in Myokard, Aorta und Skelettmuskelgewebe besteht, eine erniedrigte Expression dagegen im Lungengewebe.

Ferner wurde eine Mehranreicherung von AGGF-1 in arteriellen im Vergleich zu venösen Gefäßen gleichen Durchmessers beobachtet. Dies kann vornehmlich in Zusammenhang mit der in dieser Arbeit erstmals untersuchten Rolle und Akkumulation von AGGF-1 in glatten Gefäßmuskelzellen, deren mehrschichtiges Vorkommen einen wesentlichen Unterschied im histologischen Wandaufbau von Arterien im Vergleich zu Venen darstellt, gesehen werden. Mit diesen Beobachtungen wird die kürzlich postulierte Rolle des AGGF-1 in der Differenzierung venöser Gefäße in Frage gestellt, da eine stärkere Anreicherung des AGGF-1 in arteriellen Gefäßen jeden Kalibers als in entsprechenden venösen Gefäßen festzustellen war, und die vorliegenden Ergebnisse der Versuche mit aortalen glatten Gefäßmuskelzellen eine Funktion des AGGF-1 auch in arteriellen Gefäßen stützen.

Ferner wurde erstmals eine deutliche Akkumulation von AGGF-1 in Gewebe peripherer, die Gefäße begleitender Nerven beschrieben und in diesem Zusammenhang die Rolle peripherer Nerven an der Entwicklung vaskulärer Malformationen diskutiert.

Ein wesentlicher Schwerpunkt dieser Arbeit lag in der detaillierten Darstellung des durch AGGF-1 induzierten intrazellulären Zellsignalweges in Endothelzellen und glatten Gefäßmuskelzellen (VSMC). Der Phosphoinositid-3-Kinase-Proteinkinase-B-Signalpfad (PI3K-Akt) wurde als Hauptweg der Signaltransduktion, die durch AGGF-1 eingeleitet wird, identifiziert und die Spezifität der Induktion dieses Signalweges konnte durch geeignete Inhibitionsversuche auf eine Stimulation der Zellen mit AGGF-1 zurückgeführt werden.

Auf funktioneller Ebene konnte durch konstante Stimulation der Zellen mit AGGF-1 mittels Transfektion eines CMV-AGGF-1-DNA-Plasmides eine Erhöhung der Zellproliferationsrate

sowie der metabolischen Aktivität in VSMC beobachtet werden.

Durch Einführen dieses geeigneten in vitro Modells mit einer erhöhten Expression von AGGF-1 konnte die Basis für zukünftige in vivo Experimente geschaffen werden.

Bei Stilllegen der AGGF-1-Genexpression durch Einführen einer komplementären siRNA in die VSMC waren auf biologisch-funktioneller Ebene weder Veränderungen im proliferativen Verhalten noch in der metabolischen Aktivität der VSMC festzustellen. Aus dieser Beobachtung konnte die Schlussfolgerung gezogen werden, dass diesbezüglich ein Unterschied zwischen Endothelzellen und glatten Gefäßmuskelzellen besteht und eine verminderte Expression von AGGF-1 in VSMC möglicherweise auf andere Prozesse der Angiogenese als dem der Zellproliferation Auswirkungen hat.

Bekannte Wachstumsfaktoren und zentrale angiogene Faktoren, die in Endothelzellen und muralen Zellen im Rahmen der Angiogenese von Relevanz sind, wurden auf eine mögliche gegenseitige Regulation und Interaktion mit AGGF-1 untersucht. Es wurde hierbei insbesondere kein Zusammenhang mit VEGF (Vascular endothelial growth factor) oder PDGF (Platelet derived growth factor) beobachtet. Jedoch war bei Stimulation der VSMC mit AGGF-1 eine Herabregulation des PDGF-Rezeptors-beta festzustellen, die quantitativ der Herabregulation des Rezeptors glich, die durch Stimulation mit dem eigentlichen Rezeptorliganden PDGF-B induziert wird. Hieraus wurde auf eine mögliche direkte oder indirekte Interaktion von AGGF-1 mit dem PDGF-Rezeptor-beta in VSMC geschlussfolgert.

Außerdem wurde die veränderte Expression von AGGF-1 in einem Modell pathologisch veränderter Angiogenese und Hypertrophie in der Maus untersucht. Im linksventrikulären Myokard Calcineurin-transgener Mäuse war eine gegenüber den Wildtypkontrollmäusen erniedrigte Expression von AGGF-1 zu beobachten. Dies konnte im Wesentlichen auf das Einschlagen zweier verschiedener Signalwege der Hypertrophie, nämlich auf der einen Seite dem der pathologischen Hypertrophie - der durch Calcineurin induzierte Nuclear factor of activated T-cells (NFAT)-Signalweg - und auf der anderen Seite dem der physiologischen Hypertrophie - der durch AGGF-1 induzierte PI3K-Akt-Signalweg - und einer wechselseitigen Beeinflussung beider Wege im Sinne einer negativen Rückkopplungsschleife zurückgeführt werden.