



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

Funktionelle Analyse von Angiopoietin-like 4 Protein während der Tumorangiogenese

Autor: Tatjana Gabriela Meßmer
Institut / Klinik: Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Doktorvater: Prof. Dr. M. Felcht

Angiogenese bezeichnet die Entstehung neuer Blutgefäße durch Aussprossung bereits vorhandener Gefäße. Diese ist für physiologische Prozesse wie die embryonale Entwicklung und Wundheilung, aber auch für zahlreiche Pathologien wie Tumorerkrankungen von fundamentaler Bedeutung. Der Vaskuläre Endotheliale Wachstumsfaktor (VEGF) stellt ein zentrales Molekül in der Regulation der Angiogenese dar und steht im Fokus des wissenschaftlichen Interesses. Antiangiogene Substanzen, die in den VEGF-Signalweg eingreifen, wurden für einige Tumorentitäten zur Therapie im fortgeschrittenen Stadium zugelassen. In klinischen Studien zeigten diese jedoch nur eine begrenzte Wirksamkeit.

Der komplexe Prozess der Angiogenese wird durch zahlreiche weitere Moleküle, einschließlich Angiopoietin-like 4 (ANGPTL-4) reguliert. ANGPTL-4 ist strukturell mit den Angiopoietinen verwandt, bindet jedoch nicht an die Tie1- und Tie2-Rezeptoren. Im Bereich der -R¹⁶¹RKR¹⁶⁴- Sequenz kann das native ANGPTL-4 (fANGPTL-4) durch Proproteinkonvertasen wie Furin proteolytisch in einen C-terminalen (cANGPTL-4) und einen N-terminalen (nANGPTL-4) Anteil gespalten werden. Physiologischerweise wird ANGPTL-4 primär in Leber, Fettgewebe und Skelettmuskulatur gebildet, konnte jedoch auch in zahlreichen Tumorentitäten verstärkt nachgewiesen werden. Neben einer essenziellen Rolle im Lipidmetabolismus ist ANGPTL-4 in Angiogenese, Progression und Metastasierung diverser Tumoren involviert. Verschiedene Studien zeigten dabei allerdings gegensätzliche Einflüsse von ANGPTL-4. Die Auswirkungen der proteolytischen Spaltung wurden dabei häufig vernachlässigt.

Im Rahmen dieser Promotionsarbeit erfolgte daher eine funktionelle Analyse der Bedeutung von ANGPTL-4 während der Tumorangiogenese. Dazu wurden die angiogenen Effekte von nativem ungespaltenem ANGPTL-4 und der Spaltprodukte verglichen und beteiligte Signalwege untersucht. Um dies zu erreichen wurden drei *in-vitro*-Assays (Sphäroid-Sprouting-, Tubeformation-, Migrations-Assay) und der *ex-vivo* Aortic-Ring-Assay eingesetzt.

Dabei konnte gezeigt werden, dass fANGPTL-4 VEGF-induzierte Angiogenese verstärkt und darüber hinaus einen schwachen VEGF-unabhängigen proangiogenen Effekt aufweist. Durch die Präinkubation von fANGPTL-4 mit der Proproteinkonvertase Furin kam es zum Verlust dieser verstärkenden proangiogenen Effekte.

Die Analyse beteiligter Signalwege konnte zeigen, dass die proangiogenen Effekte von fANGPTL-4 die Bindung an $\alpha_v\beta_3$ -, $\alpha_v\beta_5$ - und $\alpha_5\beta_1$ -Integrine erfordern. Die Inhibition der Integrine mit blockierenden Antikörpern führte zu einem Verlust der proangiogenen Effekte. Außerdem zeigte sich, dass vornehmlich $\alpha_v\beta_3$ -Integrine die proangiogenen Effekte von fANGPTL-4 vermitteln. Darüber hinaus wurde die Beteiligung der Fokalen Adhäsionskinase (FAK) bei der Signaltransduktion von fANGPTL-4 untersucht. Ein endothelzellspezifischer FAK-Knockout im *ex-vivo* Aortic-Ring-Assay führte zu einer Reduktion der verstärkenden Effekte von fANGPTL-4 auf VEGF-induzierte Angiogenese.

In Zusammenschau stützen die Ergebnisse dieser Promotionsarbeit die Hypothese, dass die proteolytische Spaltung von ANGPTL-4 die biologische Aktivität beeinflusst. fANGPTL-4 und cANGPTL-4 vermitteln in Kooperation mit VEGF proangiogene Effekte und könnten damit Tumorwachstum und Metastasierung fördern. Die biologischen Funktionen der verschiedenen ANGPTL-4-Fragmente, modulierende externe Einflussfaktoren und die zugrundeliegenden Signalwege sind jedoch nicht vollständig identifiziert. Diese Promotionsarbeit liefert einen Beitrag zum besseren Verständnis der Bedeutung von ANGPTL-4 in der Tumorangiogenese und -progression. Dies stellt eine Voraussetzung für die Entwicklung neuer zielgerichteter Therapien dar.