

Shijin Wang

Dr. med.

In vitro crosstalk between endothelial cells and hepatocytes to recapitulate iron sensing

Fach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. Sebastian Mueller

Leber-sezerniertes Heparin gilt heute als zentraler Schalter der Eisenhomeostase in Säugetieren, wobei aus Endothelzellen freigesetztes BMP6 und der hepatozelluläre BMP6/SMAD Signalweg entscheidend für die Heparinexpression sind. Da immer noch unklar ist, wie Heparin das Eisen der Umgebung misst, wurde in der vorliegenden Arbeit mittels eines *in vitro* Kokultursystems insbesondere der Informationsaustausch zwischen Endothel (EC)- und Leberzellen im Detail untersucht. Als Modell für Leberzellen wurden humane Hepatomazellen Huh7 und primäre Maushepatozyten verwendet und mit Endothelzellen kokultiviert (humane HUVEC und SK hep Zellen). Der Einfluss von EC-konditionierten Medien auf Leberzellen wurde ebenfalls untersucht. Um die Reaktion auf Umgebungseisen zu untersuchen, wurden die Zellen mit unterschiedlichen Formen und Konzentrationen von Eisen, insbesondere aber Eisenammoniumzitat und Hämin inkubiert.

In der Arbeit kann gezeigt werden, dass Eisen schnell und nachhaltig BMP6 und Heparin *in vivo* in Mäusen induziert, während eine alleinige Injektion von BMP6 ebenfalls zu einer starken hepatozellulären Heparinantwort führt. Sowohl die direkte Kokultur als auch die Inkubation mit EC-konditionierten Medien führt zu einer deutlichen Induktion von hepatozellulären Heparin und seiner vorgeschalteten Signalmoleküle pSMAD1/5/8 und SMAD1. Die entscheidende Rolle von BMP6 in diesem Kokultursystem konnte durch direkte Hemmung mit einem ALK Hemmer und BMP6 siRNA bewiesen werden. Außerdem reagierten sowohl EC-vermittelte BMP6 Sekretion als auch die anschließende hepatozelluläre Heparinexpression schon auf geringe Konzentrationen sowohl von Eisen als auch Hämin. Zusammenfassend kann in dieser Arbeit gezeigt werden, dass ein Kokultursystem aus Endothel- und Leberzellen in der Lage ist, wesentliche Signalwege der *in vivo* Eisenantwort von Heparin nachzubilden.