



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

NCK1/2 are specific mediators of migration in Pericytes and promising targets in ischemic retinopathies

Autor: Steffen Emil Künzel
Institut / Klinik: European Center for Angioscience (ECAS)
Doktorvater: Prof. Dr. H. Augustin

Neovaskuläre Erkrankungen der Retina (Altersbedingte Makuladegeneration, Diabetische Retinopathie, Frühgeborenen-Retinopathie und Gefäßverschlüsse) stellen die häufigsten Ursachen für Erblindung in Deutschland und weltweit dar. Als einzig zugelassene Medikamentenklasse stehen Substanzen zur Verfügung, die intravitreal injiziert werden und VEGF-A beeinflussen – ein Kernmolekül in der Biologie von Endothelzellen. Die Kernfragestellung dieser Arbeit ist, ob alternative Signalwege und Zelltypen und damit insbesondere das Molekül PDGF-B und Perizyten geeignete Ziele für anti-angiogene Therapien darstellen, und welche Rolle diese Ziele in physiologischer und pathologischer Angiogenese spielen. Alle in vivo Experimente wurden an Mäusen, in vitro Experimente an kultivierten, menschlichen Zellen durchgeführt.

Zunächst etabliere ich Expressions-Marker-Profile, die der Unterscheidung von Perizyten und glatten Muskelzellen, bzw. anderen vaskulären Zelltypen dienen. Dies ist die Grundlage für „Fatemapping“-Experimente, die belegen, dass eine spezielle Untergruppe von alpha-SMA (alpha smooth muscle Actin)-positiven Perizyten die pathologischen Neovaskulären Tuft Formationen (NVT) im OIR-Modell bekleidet.

Als nächstes kann ich zeigen, dass eine postnatale Deletion von endotheliale *Pdgf-b* in ansonsten gesunden Mäusen ausreicht, um zu einem vollständigen Verlust von perivaskulären Perizyten zu führen. Diese „nackten“ Gefäße – also Gefäße ohne Perizytenbekleidung – sind deutlich erweitert und fragil. Interessanterweise gilt dies nicht für Mäuse, die dem OIR-Modell ausgesetzt werden und während der neovaskulären Phase eine Deletion von endotheliale *Pdgf-b* erfahren. Hier zeigte sich kein Verlust von Perizyten, aber eine deutliche Reduktion der pathologischen Tuft-Formationen, sowie Gefäßaussprossungen. Dies bestätigt die Hypothese, dass PDGF-B und Perizyten ein geeignetes Ziel in neovaskulären Retina-Erkrankungen darstellen. Allerdings zeigte sich auch eine Zunahme der prognostisch ungünstigen avaskulären Zone, was für eine verminderte Revaskularisation spricht, sowie massive intraretinale Blutungen. Dies spricht dafür, dass ein kompletter Block von endotheliale PDGF-B zu einer starken Destabilisation der retinalen Gefäße führt.

Um Perizyten in einer präziseren Weise zu tangieren führte ich in-vitro-Experimente durch. Hier zeigte sich, dass etablierte Protokolle dazu führen, dass Perizyten Gene exprimieren, die untypisch für diesen Zelltyp und eher für Stress und Differenzierung sprechen. Dementsprechend entwickelte ich Kultur-Protokolle, die es erlauben, Perizyten physiologisch in vitro zu kultivieren. Ich nutzte dieses neue Protokoll um zu zeigen, dass die intrazellulären Adaptor-Proteine NCK1 und NCK2 mit bestimmten Phosphosites des PDGFR β interagieren und in vitro spezifisch Zell-Migration steuern. Durch entsprechende transgene Mäuse konnte ich zeigen, dass NCK1/2 auch in vivo spezifisch die Perizyten-Migration steuert. Exposition dieser Mäuse in OIR-Experimenten belegt, dass eine Hemmung der Perizyten-Migration zu weniger pathologischer Neovaskularisation und verbesserter Revaskularisierung führt. Dementsprechend ist das spezifische Blockieren von Perizyten Migration ein vielversprechendes Ziel für zukünftige Therapien.