



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

**The role of Semaphorin 3C in the activation of hepatic stellate cells  
and liver fibrosis**

Autor: Max Ole Hubert  
Institut / Klinik: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)  
Doktorvater: Prof. Dr. A. Fischer

Fast 45 % aller Todesfälle in Industrieländern sind auf fibroproliferative Pathologien zurückzuführen, wobei Leberfibrose und in Folge die Leberzirrhose eine der Hauptursachen für diese Todesfälle sind. Leberfibrose ist ein pathologischer Zustand, der sich aus dem Wundheilungsprozess des Organs als Reaktion auf Leberverletzungen und chronische Entzündungen ergibt. Ständige Entzündungsreize führen zu einer übermäßigen Sekretion extrazellulärer Matrix, was zu einer Beeinträchtigung der metabolischen und synthetischen Funktion führt. Letztendlich führt die Leberfibrose zu Leberzirrhose, hepatozellulärem Karzinom, Organversagen und schließlich sogar zum Tod des Patienten. Es ist bekannt, dass die Aktivierung und myofibroblastische Differenzierung hepatischer Sternzellen eine der Hauptursachen für Leberfibrose ist. Für die Identifizierung potenziell antifibrotischer Therapieziele ist es daher von entscheidender Bedeutung, die Aktivierungsprozesse hepatischer Sternzellen zu verstehen und weiter zu untersuchen. Einer der wichtigsten Faktoren im Rahmen der Aktivierung hepatischer Sternzellen ist der TGF- $\beta$ -Signalweg, der bekanntermaßen die Differenzierung von Myofibroblasten und die Akkumulation extrazellulärer Matrix vermittelt. Semaphorine sind eine Gruppe sekretierter, membranständiger und transmembranöser Proteine, die die axonale Entwicklung und Sprossung, Angiogenese und Immunmodulation beeinflussen. Ein Mitglied dieser Familie ist Semaphorin 3C, ein sekretiertes Protein, das an die extrazelluläre Matrix bindet und über Plexine und Neuropilin-Rezeptoren 1 und 2 Signale sendet.

Die Analyse veröffentlichter Patientendatensätze bestätigte, dass die Semaphorin 3C-Expression mit einem schlechteren fibrotischen Verlauf und Zustand der Patienten korreliert. Diese Korrelation deutet auf eine zentrale Rolle von Semaphorin 3C bei der Entwicklung und dem Fortschreiten der Leberfibrose hin. In Anbetracht der entscheidenden Rolle hepatischer Sternzellen im Rahmen von Leberfibrose wurde die vermutete Rolle Semaphorin 3Cs und seiner Rezeptoren in GRX-Zellen (von hepatischen Sternzellen abgeleitete Zelllinie) und frisch isolierten, primären hepatischen Sternzellen analysiert, um die potenzielle Rolle von Semaphorin 3C im Rahmen der Aktivierung hepatischer Sternzellen besser zu verstehen. Bei Zellkultur induzierter Aktivierung frisch isolierter, primärer hepatischer Sternzellen, regulieren diese die Expression Semaphorin 3Cs hoch, exprimieren weiterhin Neuropilin 2 und regulieren die Expression von Neuropilin 1 und Plexin D1 bei kulturinduzierter Aktivierung herunter. Dies deutet darauf hin, dass Semaphorin 3C ein Marker für die Aktivierung und Transdifferenzierung hepatischer Sternzellen ist.

Um zu verstehen, inwieweit Semaphorin 3C die Aktivierung und Transdifferenzierung vermittelt, wurde Semaphorin 3C in GRX-Zellen überexprimiert. *In vitro* verstärkt die Überexpression Semaphorin 3Cs die TGF- $\beta$ -Antwort und steigert die SMAD2/3-Phosphorylierung. Charakteristische, TGF- $\beta$ -bezogene Aktivierungs- und Transdifferenzierungsmarker werden in Folge hochreguliert. Neuropilin 2 wird in aktivierten hepatischen Sternzellen weiterhin exprimiert, was darauf hindeutet, dass die Interaktion zwischen Neuropilin 2 und Semaphorin 3C die verstärkte TGF-Antwort vermittelt. Nach Deletion von Semaphorin 3C in primären, isolierten hepatischen Sternzellen und ihrer anschließenden Aktivierung durch Kulturzeit werden niedrigere Aktivierungsniveaus und Transdifferenzierungsmarker wie *Acta2* ( $\alpha$ SMA), *Pai-1*, *Tagln* (SM22 $\alpha$ ) und *S100a6* exprimiert. Die Deletion von Neuropilin 2 in primären, isolierten hepatischen Sternzellen geht mit ähnlichen Beobachtungen einher: auch in diesem Fall zeigen sich niedrigere Werte von Aktivierungs- und Transdifferenzierungsmarkern als in den jeweiligen Kontrollen. Schließlich wird beobachtet, dass die Semaphorin 3C - Expression mit einem kürzeren Gesamtüberleben bei Patienten mit hepatozellulärem Karzinom korreliert, was auf eine mögliche erweiterte Rolle Semaphorin 3Cs, nicht nur im Rahmen von Leberfibrose, sondern auch bei der Genese von hepatozellulärem Karzinom und karzinomassoziiertes Fibrose hindeutet.

Die vorliegende Dissertation postuliert, dass die Neuropilin-abhängige Modulation der TGF- $\beta$ -Signalübertragung in hepatischen Sternzellen durch Semaphorin 3C die zugrundeliegende, mechanistische Grundlage für die Wirkung von Semaphorin 3C ist. Diese Studie identifiziert Semaphorin 3C als einen neuartigen Marker und als Mediator für die Aktivierung und Transdifferenzierung hepatischer Sternzellen und letztendlich die Entstehung und das Voranschreiten von Leberfibrose. Außerdem deutet sie auf eine mögliche Rolle von Semaphorin 3C bei der Progression des hepatozellulären Karzinoms hin.