



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

**Biochemische und funktionelle Charakterisierung potentieller
Liganden von Stabilin-1 und Stabilin-2**

Autor: Christof Nikolai Kirkamm
Institut / Klinik: Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Doktorvater: Prof. Dr. C. Géraud

Stabiline sind transmembrane Proteine, die zu den Scavenger-Rezeptoren gezählt werden. Hierbei werden Stabilin-1 und Stabilin-2 unterschieden. Mittlerweile ist bekannt, dass Stabiline auf einer Vielzahl von Zellen exprimiert werden, unter anderem auf den Sinusendothelien von Milz, Lymphknoten, Leber und Nebenniere sowie auf Zellen des Immunsystems wie beispielsweise Makrophagen. Obwohl Stabilin-1 und -2 teilweise strukturelle Homologien aufweisen, unterscheidet sich deren Ligandenspektrum. So wurde gezeigt, dass Stabilin-1 acetyliertes LDL, das extrazelluläre Matrixprotein SPARC und das Protein SI-CLP bindet, wohingegen Stabilin-2 mit Hyaluronsäure, advanced glycation end products (AGE), N-terminalen Kollagen-Propeptiden und mit Heparin interagiert. Manche Liganden, wie der Wachstumsfaktor GDF-15, wurden als gemeinsame Liganden identifiziert. Frühere Publikationen haben gezeigt, dass Stabiline sowohl physiologisch als auch pathophysiologisch relevant sind: So spielen diese eine wichtige Rolle beim Metastasierungsverhalten maligner Tumoren oder deren Ansprechen auf moderne Therapien, wie z.B. Immun-Checkpoint-Inhibitoren. Durch unsere Arbeitsgruppe konnte zudem demonstriert werden, dass das genetische Fehlen oder die pharmakologische Inhibition von Stabilin-1 oder Stabilin-2 zu einer verlangsamten Entstehung von Atherosklerose in Atherosklerose-Modellen, wie ApoE- oder Ldlr-defizienten Mäusen, führt. Weiterhin wurden Knockout-Mäuse mit einem genetischen Mangel an Stabilin-1 und/oder Stabilin-2 erzeugt. Hierbei zeigte sich, dass es bei der Stabilin-1/2-Doppelknockout-Maus zu einer erheblichen Nierenfibrose mit Proteinurie, einer milderer Leberfibrose sowie einer eingeschränkten Lebenserwartung der Mäuse kommt. Dieser Phänotyp wurde jedoch nicht in den Einzelknockout-Mäusen beobachtet. Im Rahmen von Transplantationsexperimenten konnte gezeigt werden, dass die Schädigung der Niere durch zirkulierende Metabolite verursacht sein muss. Durch proteomische Analysen aus Seren von Wildtyp-, Einzel- und Doppelknockout-Mäusen konnten zahlreiche, bisher unbekannte Stabilin-Liganden identifiziert werden, unter anderem die Proteine Periostin und MIF. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war eine weitergehende Charakterisierung potentieller neuer Stabilin-Liganden. Sowohl Periostin als auch MIF wurden in der Vergangenheit pathophysiologisch wiederholt mit Fibrosen in verschiedenen Organsystemen in Zusammenhang gebracht. Zudem weist Periostin strukturelle Homologien zu Stabilin-1 und Stabilin-2 auf. Um eine Interaktion mit den Stabilinen zu verifizieren und einem möglichen kausalen Zusammenhang mit dem bei den Mäusen beobachteten Phänotyp näher zu kommen, wurden GST-Pull-Down-Assays bzw. Endozytose-Assays durchgeführt. Hierbei konnte demonstriert werden, dass sowohl Periostin als auch MIF mit der Fasciclin-Domäne F1-2 von humanem Stabilin-1 und - etwas weniger - auch mit der Fasciclin-Domäne F1-2 von humanem Stabilin-2 interagieren. Für MIF wurde zudem eine Interaktion mit der Fasciclin-Domäne F7 des humanen Stabilin-2 nachgewiesen. In den durchgeführten Endozytose-Assays mit Periostin zeigten sich hierzu teils diskrepante Befunde, jedoch konnte in unserer Arbeitsgruppe später bestätigt werden, dass Periostin durch murines Stabilin-1 und Stabilin-2 phagozytiert und einem lysosomalen Abbau zugeführt wird. Insgesamt konnten die Proteine Periostin und MIF erstmals als neue Stabilin-Liganden beschrieben und bestätigt werden. Mit der vorliegenden Arbeit konnte der Weg geebnet werden, um die distinkte Rolle von Periostin und MIF bei der Entstehung der beobachteten Organpathologien in der Stabilin-1/2-Doppelknockout-Maus weiter zu erforschen und zu charakterisieren.