

Lena Marie Kappert
Dr. med.

***Nuclear factor of activated T-cells 5*-abhängige Regulation der transkriptionellen Reaktion glatter Gefäßmuskelzellen auf exogenes Cholesterin**

Fach/Einrichtung: Physiologie
Doktorvater: Prof. Dr. rer. physiol. Thomas Korff

Atherosklerotisch bedingte kardiovaskuläre Erkrankungen zählen zu den Haupttodesursachen weltweit. In frühen Stadien der Atherosklerose kommt es zur Ablagerung von Cholesterin in Form modifizierter Lipoproteine wie oxidiertem *Low-Density Lipoprotein* (oxLDL) an Prädispositionsstellen in der Arterienwand. Glatte Gefäßmuskelzellen und Makrophagen können die Lipoproteine aufnehmen und sich zu Schaumzellen entwickeln. Neuere Studien zeigen, dass glatte Gefäßmuskelzellen den Ursprung für den Großteil der Schaumzellpopulation darstellen und wesentlich zum Progress der Atherosklerose beitragen. Dabei sind die Mechanismen, die die transkriptionelle Reaktion der glatten Gefäßmuskelzellen auf exogenes Cholesterin und die Phänotypänderung von glatten Gefäßmuskelzellen zu Schaumzellen steuern, weitgehend unbekannt. *Nuclear factor of activated T-cells 5* (NFAT5) ist ein ubiquitär exprimierter Transkriptionsfaktor, der in verschiedenen Zellen als stresssensibler Transkriptionsfaktor fungiert und auch bei der Differenzierung von glatten Gefäßmuskelzellen relevant ist. Vor diesem Hintergrund wurde die Hypothese aufgestellt, dass NFAT5 die Reaktion glatter Gefäßmuskelzellen auf exogenes Cholesterin und deren Phänotypänderung zu Schaumzellen regulieren könnte. Vorausgehende Forschungsarbeiten deuteten darauf hin, dass NFAT5 in Gegenwart von Cholesterin aktiviert wird und protektiv auf die glattmuskuläre Schaumzellbildung wirken könnte. Dahingehend zielte diese Arbeit darauf ab, den funktionellen Einfluss von NFAT5 in mit Cholesterin bzw. oxLDL stimulierten glatten Gefäßmuskelzellen sowie in ergänzenden *in vivo*-Studien näher zu charakterisieren und potenzielle Zielgene von NFAT5 zu identifizieren.

Zur Untersuchung von NFAT5 im Kontext der glattmuskulären Schaumzellbildung wurden glatte Gefäßmuskelzellen aus Aorten von Mäusen isoliert, bei denen ein *knockout* von *Nfat5* spezifisch in glatten Muskelzellen induziert werden kann. Stimulation der glatten Gefäßmuskelzellen mit exogenem Cholesterin führte zu einer erhöhten Expression von für den Schaumzellphänotyp typischen Markergenen. Auch nach Behandlung der Zellen mit oxLDL, als weiteren proatherogenen Stimulus, konnte eine gesteigerte Expression des Schaumzellmarkergens *ATP-binding cassette, sub-family A, member 1* nachgewiesen werden. Zudem konnte erstmalig gezeigt werden, dass nicht nur eine Stimulation mit Cholesterin, sondern auch mit oxLDL zu einer Erhöhung der nukleären NFAT5-Proteinmenge führt. Zur weiteren Untersuchung des funktionellen Einflusses von NFAT5 wurde ein *knockout* von *Nfat5* in Cholesterin-exponierten glatten Gefäßmuskelzellen induziert. Mithilfe eines Polymerase-Kettenreaktion-Screening-Verfahrens konnten mit *superoxide dismutase 1, soluble, perilipin 2, peroxisome proliferator activator receptor delta* und *fatty acid binding protein 3, muscle and heart* vier mit dem Lipidmetabolismus assoziierte, potenzielle Zielgene von NFAT5 identifiziert werden. Mithilfe des Lysochroms Oil Red O konnte gezeigt werden, dass *knockout* von *Nfat5* in Cholesterin-exponierten glatten Gefäßmuskelzellen zu einer vermehrten Ablagerung von

Lipiden im Zytoplasma führt, während Überexpression von *NFAT5* eine Reduktion der Lipidakkumulation bewirkt. In ergänzenden *in vivo*-Untersuchungen erhielten Mäuse mit einem für glatte Muskelzellen spezifischen *Nfat5-knockout* und entsprechende Kontrolltiere für 25 Wochen eine cholesterinreiche, atherogene Diät oder ein Kontrollfutter. Eine Oil Red O-Färbung der Aorten der Mäuse ergab, dass glattmuskelspezifisch *Nfat5*-defiziente Mäuse nach Fütterung mit einer atherogenen Diät eine signifikant stärkere Ablagerung von Lipiden in der Gefäßwand aufweisen als die Kontrolltiere.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass es sich bei NFAT5 um einen cholesterinsensitiven Transkriptionsfaktor handelt, der in Gegenwart von exogenem Cholesterin bzw. oxLDL in den Zellkern transloziert wird. In diesem Kontext steuert NFAT5 die Expression verschiedener Zielgene, die auf den Transport, die Speicherung und den Metabolismus von Lipiden Einfluss nehmen. Über diese transkriptionelle Reaktion kann NFAT5 glatte Gefäßmuskelnzellen unter proatherogenen Bedingungen vor übermäßiger Cholesterinakkumulation schützen. Sowohl *in vitro* als auch *in vivo* führt eine genetische Ablation von *Nfat5* in glatten Muskelzellen zu einer verstärkten Lipidakkumulation. Therapeutisches Targeting von NFAT5 zur Erhöhung der Kapazität glatter Gefäßmuskelnzellen im Umgang mit exogenem Cholesterin erscheint aufgrund der komplexen zellspezifischen und innerhalb der Pathogenese der Atherosklerose divergierenden Wirkung von NFAT5 zum aktuellen Zeitpunkt nicht zielführend. NFAT5 konnte in dieser Arbeit als Teil eines zellulären Schutzmechanismus gegen Lipidakkumulation charakterisiert werden, dessen Relevanz für die humane Pathogenese der Atherosklerose in weiteren Studien verifiziert werden sollte.