

Zusammenfassung

Die Angiogenese zählt zu einem der fundamentalsten Prozesse des menschlichen Organismus, da nur ein funktionales Gefäßsystem eine ausreichende Sauerstoff- und Nährstoffzufuhr der einzelnen Gewebe gewährleisten kann. Dabei ist die strikte Regulation angiogener Prozesse durch pro- bzw. anti-angiogene Faktoren für die Homöostase des Blutgefäßsystems entscheidend. In diesem Kontext wird dem extrazellulären Matrixprotein Netrin-4 eine regulatorische Funktion zugeschrieben. Ob es sich hierbei um eine pro- oder anti-angiogene Wirkung handelt und über welchen zellulären Rezeptor diese vermittelt wird, ist jedoch in der Literatur bislang kontrovers diskutiert worden. Darüber hinaus ist die aktive Domäne von Netrin-4 unbekannt. Im Rahmen dieser Arbeit sollte daher die Funktion von Netrin-4 in der Angiogenese von Endothelzellen untersucht und die aktive Domäne von Netrin-4 identifiziert werden.

In den durchgeführten Studien konnte gezeigt werden, dass eine hohe Konzentration von Netrin-4 inhibierend auf die Ausbildung kapillarähnlicher Endothelzellstrukturen wirkt, ohne dabei zelltoxisch zu sein. Auch bereits bestehende Endothelzellstrukturen wurden durch die Zugabe von Netrin-4 negativ beeinflusst. Interessanterweise war dieser inhibierende Effekt von der verwendeten Matrix abhängig, da die Zugabe von Netrin-4 ausschließlich auf Matrigel oder Laminin-Gel zu einer verringerten Adhäsion und Zellausbreitung der Endothelzellen führte. Zudem konnte bei längerer Netrin-4-Inkubation eine Inhibition in der Proliferations- und Migrationsrate der Endothelzellen detektiert werden. Elektronenmikroskopische Studien verdeutlichten schließlich, dass Netrin-4 zu einer Auflösung der endothelialen Basalmembran auf dem Matrigel führt. In Verbindung mit Polymerisationsexperimenten wurde zudem nachgewiesen, dass Netrin-4 die Polymerisation von Matrigel und Laminin-Gel inhibieren und auch zur Auflösung bereits auspolymerisierter Gele führen kann. Ausgehend von Austauschmutanten einzelner Domänen von Netrin-4 gegen entsprechende Strukturen des verwandten Proteins Laminin $\gamma 1$ wurde die aktive Domäne von Netrin-4 als Kombination aus der LN- und der ersten LE-Domäne identifiziert. Über Sequenzanalysen und molekulares Modelling konnte dabei innerhalb der LE-Domäne eine für Netrin-4 spezifische Aminosäuresequenz ermittelt werden. Diese Sequenz bildet eine große Schleife aus zwei antiparallelen β -Faltblattstrukturen, welche zusammen mit der globulären LN-Domäne eine starke Bindung an endotheliales Laminin $\gamma 1$ vermittelt.

Diese Daten identifizieren erstmals die aktive Domäne von Netrin-4, über die durch die starke Bindung an zelluläres Laminin $\gamma 1$ ein anti-angiogener Effekt ausgeübt werden kann. Dabei destabilisiert Netrin-4 in hohen Konzentrationen die endotheliale Basalmembran und beeinflusst Basalmembran-abhängige zelluläre Prozesse wie die Adhäsion, Proliferation und Migration der Endothelzellen negativ.