

Zusammenfassung

Der Aufbau von Kollagen VI Mikrofibrillen ist ein komplexer, mehrstufiger Prozess, wobei die proteolytische Prozessierung der C-terminalen globulären Region der Kollagen VI $\alpha 3$ Kette eine bedeutende Rolle spielt. Die genauen Abläufe sind jedoch nicht bekannt. Ein Fragment, das während dieses Prozesses abgespalten wird, ist die am Ende des C-Terminus der $\alpha 3$ -Kette gelegene C5/Kunitz-Domäne. In seiner freien abgespaltenen Form wird sie als Endotrophin bezeichnet und soll als Adipokin an der Förderung von Tumorwachstum, an Entzündungsreaktionen und an der Entstehung einer Insulinresistenz beteiligt sein. Des Weiteren scheint der Endotrophingehalt im Serum ein Biomarker für den Verlauf verschiedener Erkrankungen, wie chronisch obstruktiver Lungenerkrankungen, systemischer Sklerose und Nierenerkrankungen zu sein. Im Rahmen dieser Arbeit konnte das knochenmorphogenetische Protein 1 (BMP-1) als verantwortliche extrazelluläre Metalloproteinase für die Freisetzung von Endotrophin identifiziert werden. Mittels Massenspektrometrie wurde die genaue Schnittstelle innerhalb der $\alpha 3$ Kette bestimmt. Darüber hinaus ergaben Immunoblot-basierte Untersuchungen, dass nur sehr geringe Mengen an freiem Endotrophin im Gewebe nachweisbar sind, die nur eine lokal beschränkte Aktivität dieses Adipokins zulassen. Dagegen war eine Vielzahl von größeren C5-haltigen Fragmenten in verschiedenen Geweben und Körperflüssigkeiten nachzuweisen. Eines dieser Fragmente, das die Domänen C2-C5 umfasst, wird durch eine Furin-ähnliche Proproteinkonvertase freigesetzt. Unter Verwendung von primären dermalen Fibroblastenkulturen und affinitätsgereinigten Antikörpern gerichtet gegen die N-terminale Region und die C5 Domäne der $\alpha 3$ Kette konnte gezeigt werden, dass diese proteolytische Reifung nach der Sekretion der Kollagen VI Tetramere und während der Ausbildung der Mikrofibrillen stattfindet. Eine unterschiedliche Lokalisierung der N- und C-terminalen Bereiche der Kollagen VI $\alpha 3$ Kette zeigte eine besondere Ablagerung von Spaltprodukten in Gewebe- und Zellkulturen, die diesen Spaltprodukten eine von den Kollagen VI Mikrofibrillen unabhängige Rolle zuweisen könnten. Ein starkes intrazelluläres Signal des C5 Antikörpers in Fibroblasten ließ zudem auf eine Internalisierung von Endotrophin und/oder C5-haltigen Fragmenten schließen. Die Wiederaufnahme von Endotrophin und C5-haltigen Fragmenten in RPE-1 Zellen, die das klassische Zellsystem für Endozytosestudien darstellen, konnte nur für das 70 kDa große C2-C5 Fragment gezeigt werden. Vermittelt wird diese Aufnahme über Clathrin-ummantelte Vesikel, wobei das C2-C5 Fragment schlussendlich in Lysosomen abgebaut wird. Die hier untersuchte proteolytische Prozessierung des C-Terminus der Kollagen VI $\alpha 3$ Kette bildet die Grundlage, um die Funktion von Endotrophin und größeren C5-haltigen Fragmenten aufzuklären, ihre Verwendung als Biomarker zu verfeinern und deren Beitrag bei der Entstehung von Kollagen VI assoziierten Myopathien zu studieren.