

Zusammenfassung

Laminine sind heterotrimere Glykoproteine, die eine der vier Hauptkomponenten von Basalmembranen darstellen. Sie bestehen jeweils aus einer α -, β - und γ -Kette. Die γ 1-Kette ist die am häufigsten vorkommende Laminin γ -Kette. Ihre Deletion in der Maus führt zum Tod der Tiere an Tag 5.5 der Embryonalentwicklung. Um die Rolle der γ 1-haltigen Laminine in der Haut zu untersuchen, wurden mit dem Cre//loxP-System Mäuse generiert, die entweder eine Keratinozyten- oder Fibroblasten-spezifische Defizienz der Laminin γ 1-Kette aufweisen. Die Keratinozyten-spezifische Laminin γ 1-Defizienz führt auf molekularer Ebene sowohl zum Verlust von Laminin-511 als auch zur ektopischen Ablagerung von Laminin-211 in der dermo-epidermalen Basalmembran. Dies zeigt, dass Laminin-511 nur von Keratinozyten und Laminin-211 nur von Fibroblasten synthetisiert wird. Die Keratinozyten-spezifische Laminin γ 1-Defizienz verursacht eine Reihe von phänotypischen Veränderungen. Die Mäuse zeigen Syndaktylie und ein verzögertes Wachstum, was vermutlich durch den Verlust von Laminin-511 in der lingualen Basalmembran und daraus resultierenden Problemen bei der Nahrungsaufnahme verursacht wird. Am auffälligsten ist jedoch die verspätete Entwicklung des Fells und der Pigmentierung, was wahrscheinlich auf eine verzögerte Haarfollikel-Morphogenese zurückzuführen ist. Weiterhin konnten eine hyperproliferative Epidermis und eine Akkumulation von Immunzellen (Makrophagen, Mastzellen, Langerhans-Zellen, $\gamma\delta$ T-Zellen) in der Haut beobachtet werden. Die Ultrastruktur der dermo-epidermalen Basalmembran weist schwere Defekte auf. Stellenweise fehlt sie zwischen den Hemidesmosomen oder ist verdickt. Die Ausbildung der Hemidesmosomen selbst ist jedoch nicht gestört. Genanalysen zeigten eine reduzierte Expression der Transkriptionsfaktoren *Hoxc13*, *Foxn1*, *Foxq1* und *Msx2*, die alle direkt oder indirekt an der Regulation der Expression von Haarkeratinen des Kortex, der Medulla oder der Kutikula beteiligt sind. Diese Ergebnisse konnten auf Proteinebene mit Immunblot- und Immunfluoreszenz-Analysen bestätigt werden. Der zur Keratinozyten-spezifischen Expression der Cre-Rekombinase verwendete Keratin 14-Promotor ist auch im Thymus aktiv. Obwohl dort keine offensichtliche Veränderung der Laminin-Expression festgestellt werden konnte, zeigten sich Veränderungen bei der T-Zell-Komposition. Die Fibroblasten-spezifische Laminin γ 1-Defizienz führt ebenfalls zu schweren ultrastrukturellen Defekten in der dermo-epidermalen Basalmembran. Welche Laminin-Isoform diesen Phänotyp verursacht, konnte bisher nicht geklärt werden. Zusammenfassend konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass sowohl Keratinozyten als auch Fibroblasten zur Laminin-Zusammensetzung der dermo-epidermalen Basalmembran beitragen und dass die von beiden Zelltypen exprimierten γ 1-Laminine essenziell für die Integrität der Haut sind. Laminin-511 scheint dabei eine entscheidende Rolle bei der Regulation der epidermalen Homöostase und der Haarfollikel-Entwicklung zu spielen.

Abstract

Laminins are one of the four major basement membrane components. They are heterotrimeric glycoproteins, composed of an α , β and γ chain, the $\gamma 1$ chain being the most abundant laminin γ chain. Mice lacking the $\gamma 1$ chain die at day 5.5 of embryogenesis, implicating that $\gamma 1$ chain containing laminins are a prerequisite for the formation of basement membranes during development. To investigate the role of the $\gamma 1$ chain containing laminin isoforms in skin, mice with either keratinocyte-specific or fibroblast-specific deletion of the laminin $\gamma 1$ chain were generated using the *Cre/loxP* system. On the molecular level, the keratinocyte-specific deletion of the laminin $\gamma 1$ chain results in the loss of laminin-511 from the dermal-epidermal junction and in ectopic deposition of laminin-211, identifying keratinocytes as the source of laminin-511 expression and fibroblasts as the source of laminin-211 expression. Mice with keratinocyte-specific laminin $\gamma 1$ deficiency display several severe phenotypes such as syndactyly and growth retardation, which is probably due to the loss of laminin-511 from the lingual basement membrane, causing problems with food uptake. Most strikingly, $\gamma 1$ -deficient mice show retarded hair follicle morphogenesis accompanied by reduced proliferation of hair matrix cells and a delay in coat development as well as pigmentation. The epidermis displays hyperproliferative areas and the number of immune cells (macrophages, mast cells, Langerhans cells, $\gamma\delta$ T-cells) in skin is significantly increased. On the ultrastructural level, the dermal-epidermal basement membrane is not present in some areas, while being thickened in other areas. However, hemidesmosome formation appears to be normal. Microarray gene expression analyses of skin revealed down regulation of the transcription factors *Hoxc13*, *Foxn1*, *Foxq1*, and *Msx2*, all known to directly or indirectly regulate expression of hair keratins found in the cortex, medulla and cuticle layers of the hair shaft. These data could be confirmed on the protein level by western blotting and immunofluorescence analysis, showing reduced expression or impaired localization of these proteins. The keratin 14 promoter used for the Cre-mediated keratinocyte-specific laminin $\gamma 1$ deletion is also active in the thymus. Although we could not detect major changes in laminin deposition in the thymus, the composition of the thymic T-cell pool is significantly altered in these mice. Fibroblast-specific laminin $\gamma 1$ deficiency also results in severe ultrastructural defects of the dermal-epidermal junction. However, the laminin isoform causing this phenotype could not be identified yet. In summary, the study revealed that both keratinocytes and fibroblasts contribute to the laminin composition of the dermal-epidermal basement membrane, and that the $\gamma 1$ chain containing laminins produced by both cell types are essential for skin integrity. Furthermore, Laminin-511 appears to play an important role in the maintenance of epidermal homeostasis as well as in hair follicle development.