

Endotheliales Connexin43 als angiogener Effektor

C. Köppler (Ludwigshafen)

Hintergrund:

Die pathophysiologische Relevanz von interzellulären Gap Junctions bei kardiovaskulären Erkrankungen ist hinreichend belegt. So können struktureller Herzerkrankungen die Expressionsprofile bzw. Gating-Eigenschaften kardialer Connexine durch posttranslationale Signalwege beeinflussen und damit eine proarrhythmische Veränderung bewirken. In den letzten Jahren wurde zudem insbesondere Connexin43 (Cx43) als vielversprechendes Zielprotein mit angiogeneseassoziierten Signalkaskaden in Verbindung gebracht. So führt interessanterweise die hämodynamische Stimulation von Gefäßen zu einer erhöhten endothelialen Expression von Cx43 und kann darüber vermehrt angiogenetisch wirken. Ziel der vorliegenden Studie war es zu differenzieren, inwiefern diese Beobachtung von einem veränderten interzellulären Fluss über Gap Junction Funktion der Proteine abhängt oder kanalunabhängig über intrinsische Proteindomänen bzw. Signalkaskaden vermittelt wird.

Methode:

Tube Formation Assays wurden an Endothelzellen aus menschlichen Nabelschnurvenen (HUVEC) mit bzw. ohne Gap Junction Inhibitor Protein Gap27 und Cx43-spezifischer siRNA durchgeführt. Die quantitative Analyse des nachfolgenden Cx43-Expressionlevel erfolgte durch RT-qPCR.

Ergebnis:

Die Anzahl der Gefäßformationen war nach Inkubation von 30 μM Gap27 ($129,9 \pm 6,7$; $n=6$) als auch 300 μM Gap27 ($101,8 \pm 12,2$; $n=6$) nicht signifikant unterschiedlich von der entsprechenden Kontrollgruppe ($114,2 \pm 6,8$; $n=6$). Nach Transfektion von Cx43-spezifischer siRNA konnte ein Knockdown von $93\% \pm 4$ ($n=3$) im Vergleich zur entsprechenden Kontroll-siRNA erreicht werden. Sowohl 30 μM als auch 300 μM Gap27 hatten keinen signifikanten Effekt auf Cx43-Expressionslevel. Nach Cx43-siRNA Transfektion war die Anzahl der Gefäßformationen im Vergleich zur Kontrolle ($93,4 \pm 12,1$; $n=6$) signifikant reduziert ($51,3 \pm 3,4$; $n=4$).

Schlussfolgerung:

Die aktuell vorliegenden Ergebnisse der Studie implizieren, dass die angiogenetischen Funktionen von Cx43 eher auf intrinsischen Funktionen des Proteins bzw. generell an die endogenen Cx43-Expressionslevel gekoppelt ist und nicht von dem interzellulären Signalaustausch bzw. von funktionalen Gap Junctions abhängt. Jedoch sind weitergehende Experimente mit u.a. chimären Cx43-Proteinen in Kombination mit funktionalen Gap-Junction Assays nötig um eine genaue Differenzierung und Subspezifizierung der involvierten intrazellulären Domänen von Cx43 zu ermöglichen.