

Zusammenfassung

Die schnelle und effiziente epidermale Wundheilung nach der Verletzung der Haut ist ein essentieller Vorgang, um die lebenswichtigen Funktionen dieses Organs aufrechtzuerhalten, wie z.B. die Regulation der Körpertemperatur und des Wasserhaushaltes oder der Schutz vor mechanischem Stress.

Innerhalb dieses Vorgangs kommt der Migration von Keratinozyten eine besondere Bedeutung zu. Die Keratinozytenmigration ist komplex und wird von vielen Proteinen beeinflusst. Einige humane, vererbte Hautkrankheiten eignen sich als Modelle zur Erforschung der spezifischen Funktion bestimmter Proteine bei diesem Prozess.

In dieser Doktorarbeit wurden Keratinozyten von Patienten mit den vererbten Hautkrankheiten (1) *Epidermolysis bullosa junctionalis*, (2) Zylindromatosis und dem (3) Kindler-Syndrom untersucht. Diese Keratinozyten exprimierten nur eine trunkierte Form von Kollagen XVII (1), oder ihnen fehlten die Proteine Cyld (2) bzw. Kindlin-1 (3) vollständig. Zudem konnte eine siRNA-induzierte spezifische Herunterregulierung von Kollagen XVII in primären Keratinozyten und der Keratinozyten-Zelllinie HaCaT etabliert werden.

Auf diese Modelle wurden diverse, komparative Migrationsassays mit teilweise selbständig angepassten Auswertungsformen angewendet, um zahlreiche migratorische Parameter zu quantifizieren. Zudem wurde mittels Immunfluoreszenzmarkierungen der Zustand des Zytoskeletts und der Zell-Matrix-Adhäsionen analysiert.

Dabei zeigten die Keratinozyten, die eine trunkierte Form des Kollagen XVII exprimierten, eine eingeschränkte Einlagerung dieses Proteins in die Zellmembran und ein unkoordiniertes Migrationsverhalten. Auch das lamellipodiale Aktinzytoskeletts war verändert. Keratinozyten, bei denen die Expression dieses Proteins herunterreguliert war, wiesen eine erhöhte generelle Migrationsneigung und die verstärkte Ausbildung lamellipodiale Strukturen auf. Damit konnte die vermutete Rolle des Kollagen XVII als Schaltstelle zwischen Hemidesmosomenauflösung und der Induktion von Lamellipodien und als Regulator der Migrationsneigung von Keratinozyten bekräftigt und weiter spezifiziert werden.

Bei den Zylindroma-Zellen waren die fokalen Adhäsionen in verstärktem Maße gereift und sowohl die Organisation des Aktin- als auch des Tubulinzytoskeletts war verändert. Dies resultierte in einer reduzierten Migrationskapazität.

Das Fehlen von Kindlin-1 führte zu einer insgesamt ungerichteten und verlangsamten Migration und der gestörten Ausbildung von Lamellipodien.

Zusammenfassend konnte durch diese Studien für alle drei Proteine eine Funktion bei der Organisation des Zytoskeletts und der Migration von Keratinozyten nachgewiesen werden.

Abstract

A quick and efficient epidermal wound healing after injury of the skin is a very important process to maintain the essential functions of this organ like the regulation of temperature and water equilibrium or the protection against mechanical stress.

Within this process the migration of keratinocytes is of special importance. The keratinocyte migration is complex and influenced by many proteins. Some human hereditary skin diseases are suitable as a model for the investigation of the specific functions of certain proteins in this process.

During this PhD thesis keratinocytes derived from patients suffering from the hereditary skin diseases (1) junctional epidermolysis bullosa, (2) cylindromatosis and the (3) kindler syndrome were analysed. These keratinocytes expressed only a truncated form of collagen XVII (1) or the proteins cyld (2), respectively kindlin-1 (3) are lacking completely. In addition to this a specific siRNA-induced downregulation of collagen XVII in primary keratinocytes and the keratinocyte cell line HaCaT could be established.

Upon these models several comparative migration assays were applied with in part independently adapted forms of evaluation to quantify multiple migratory parameters. Besides this the condition of the cytoskeleton and of the cell matrix adhesions was analysed by immunofluorescence stainings.

Thereby keratinocytes which expressed a truncated form of collagen XVII showed a restricted targeting of this protein into the cell membrane and an uncoordinated migratory behaviour. The lamellipodial cytoskeleton was also altered. Keratinocytes in which the expression of this protein was downregulated, exhibited a generally enhanced migration propensity and an increased formation of lamellipodial structures. With this the assumed role of collagen XVII as an interface between the disassembly of hemidesmosomes and the induction of lamellipodia and as a regulator of the migration propensity of keratinocytes could be confirmed and further specified.

In the cylindroma cells the maturation of focal adhesions was increased and the organisation of both the actin and tubulin cytoskeleton was changed. This resulted in a reduced migratory capacity.

The lack of kindlin-1 leads to a undirected and slowed down migration and disturbed formation of lamellipodia.

In summary this study showed a function of all three proteins in the organisational state of the cytoskeleton and the migration of keratinocytes.