

Der angiomodulative Effekt von IL-6 auf vaskuläre Endothelzellen

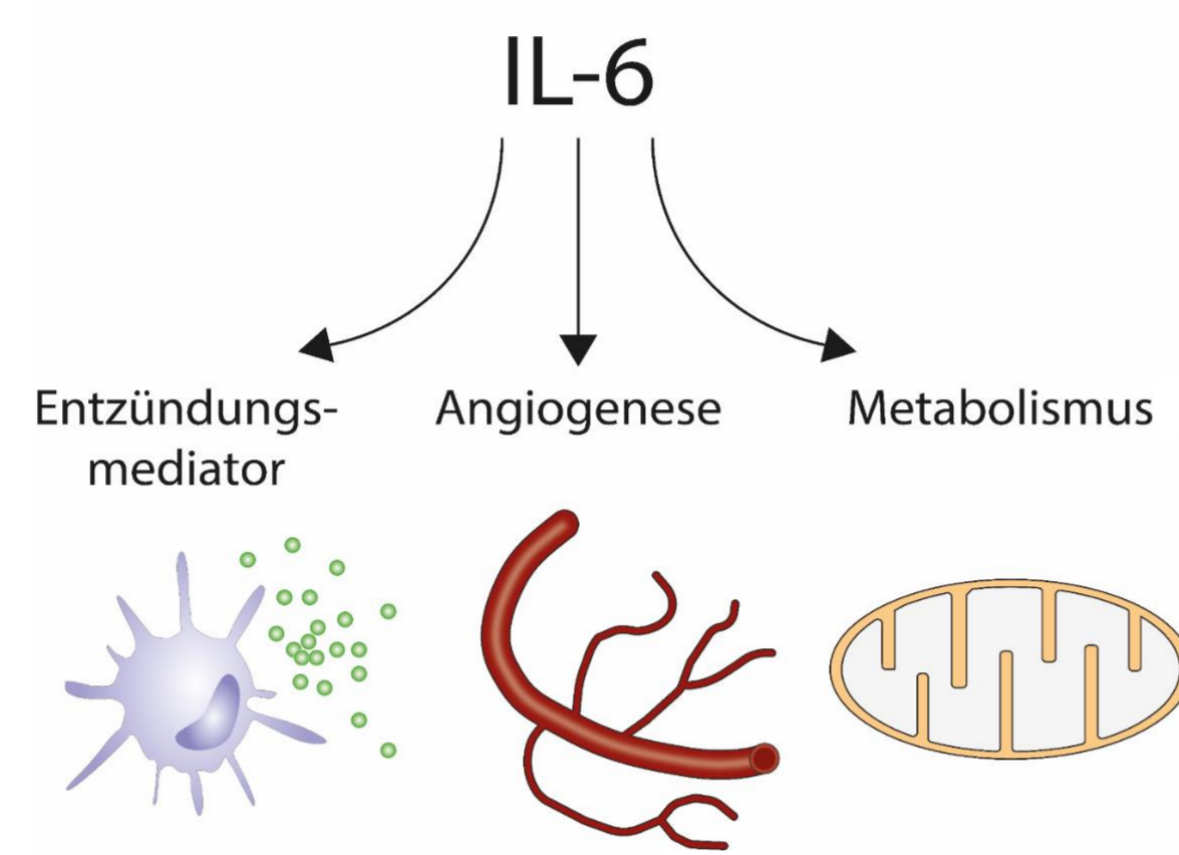
Malte Jung¹, Stefaniya Boneva¹, Paula Liang¹, Julian Rapp¹, Günther Schlunck¹, Hansjürgen Agostini¹, Clemens Lange², Felicitas Bucher¹

¹ Klinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Freiburg, Freiburg, Deutschland
² Ophtha-Lab, Augenzentrum am St. Franziskus-Hospital, Münster, Deutschland

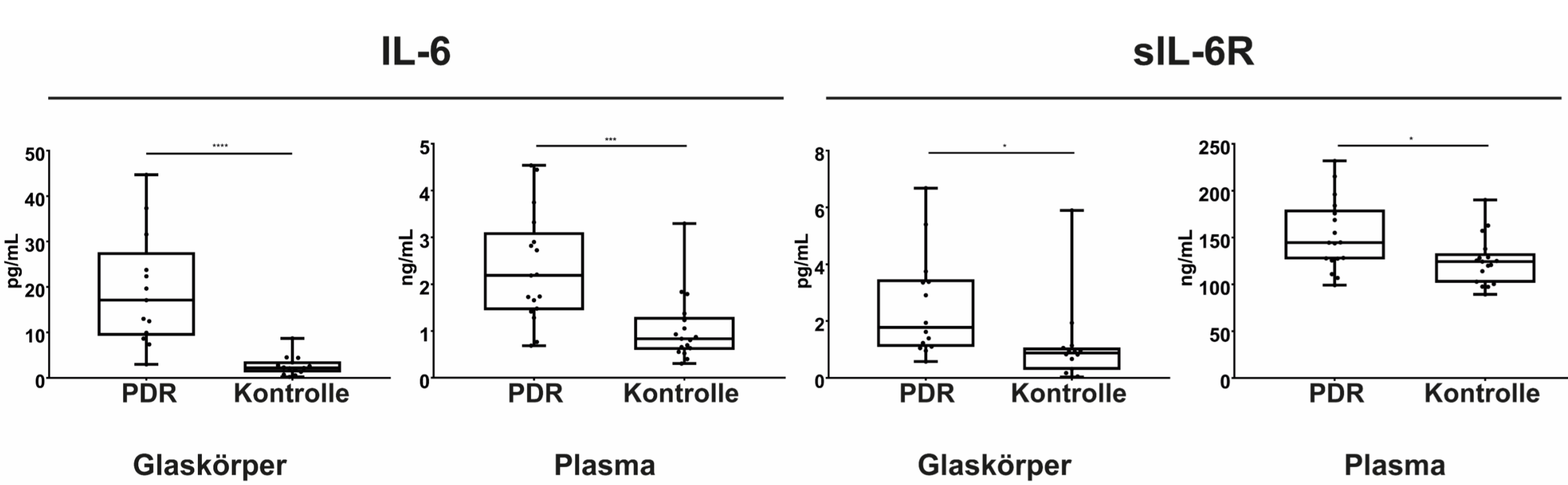
Einleitung

Zentrale Bestandteile des diabetischen Krankheitsprozesses einschließlich der diabetischen Retinopathie, sind eine metabolische Dysregulation und ein chronischer niedriggradiger Entzündungsprozess.

Eigene und schon publizierte Daten [1] zeigen einen signifikant erhöhten Spiegel von Interleukin 6 (IL-6), einem bekannten Entzündungsmediator, in Glaskörperproben von Diabetikern, der mit der Schwere der Erkrankung korreliert. Ziel dieser Studie ist es zu untersuchen ob, IL-6 und sein beteiligter löslicher Rezeptor (sIL-6R), die Angiogenese beeinflusst und metabolische Effekte auf humane vaskuläre Endothelzellen hat.

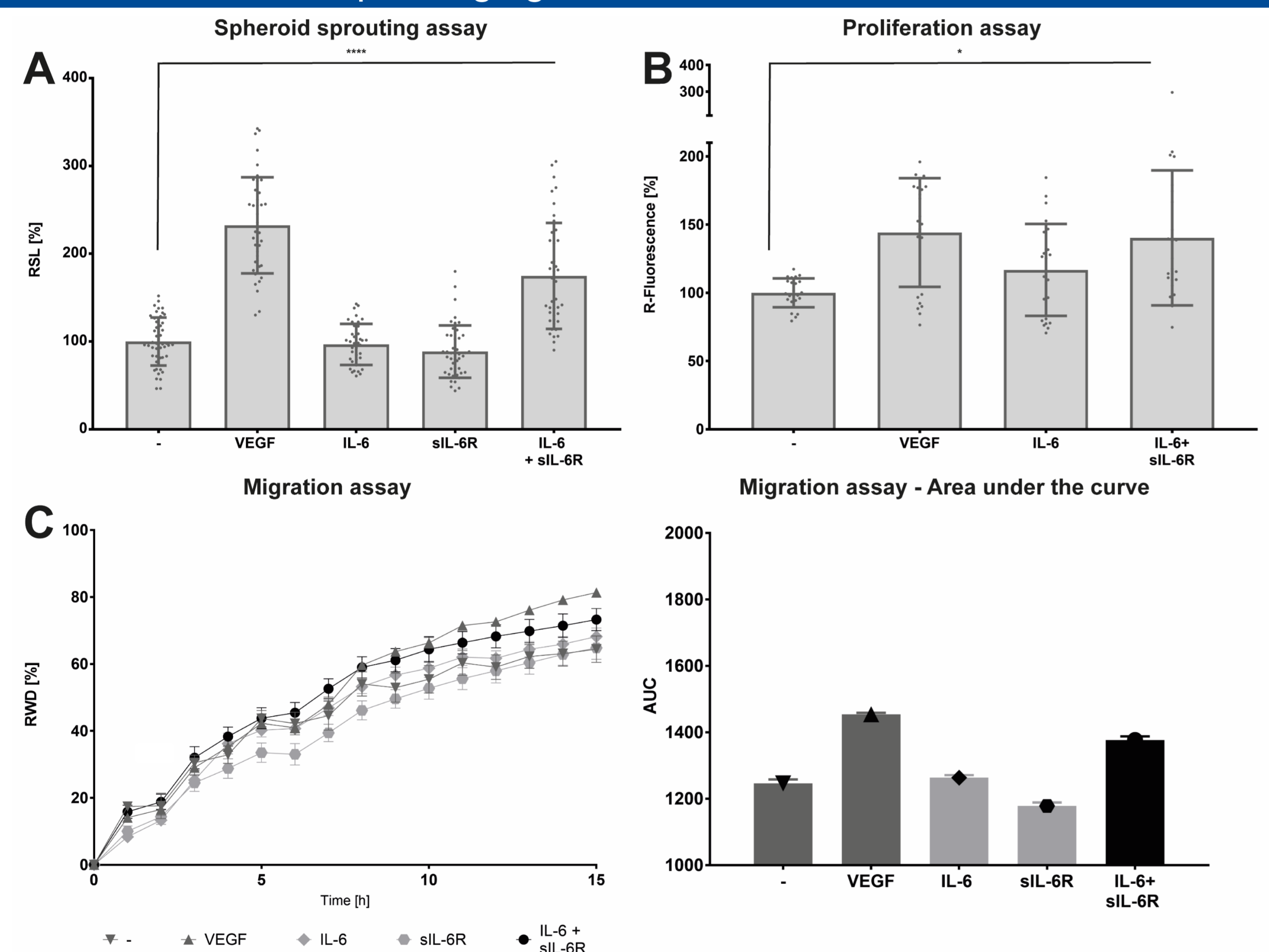


1. IL-6 und sIL-6R bei Diabetischer Retinopathie erhöht



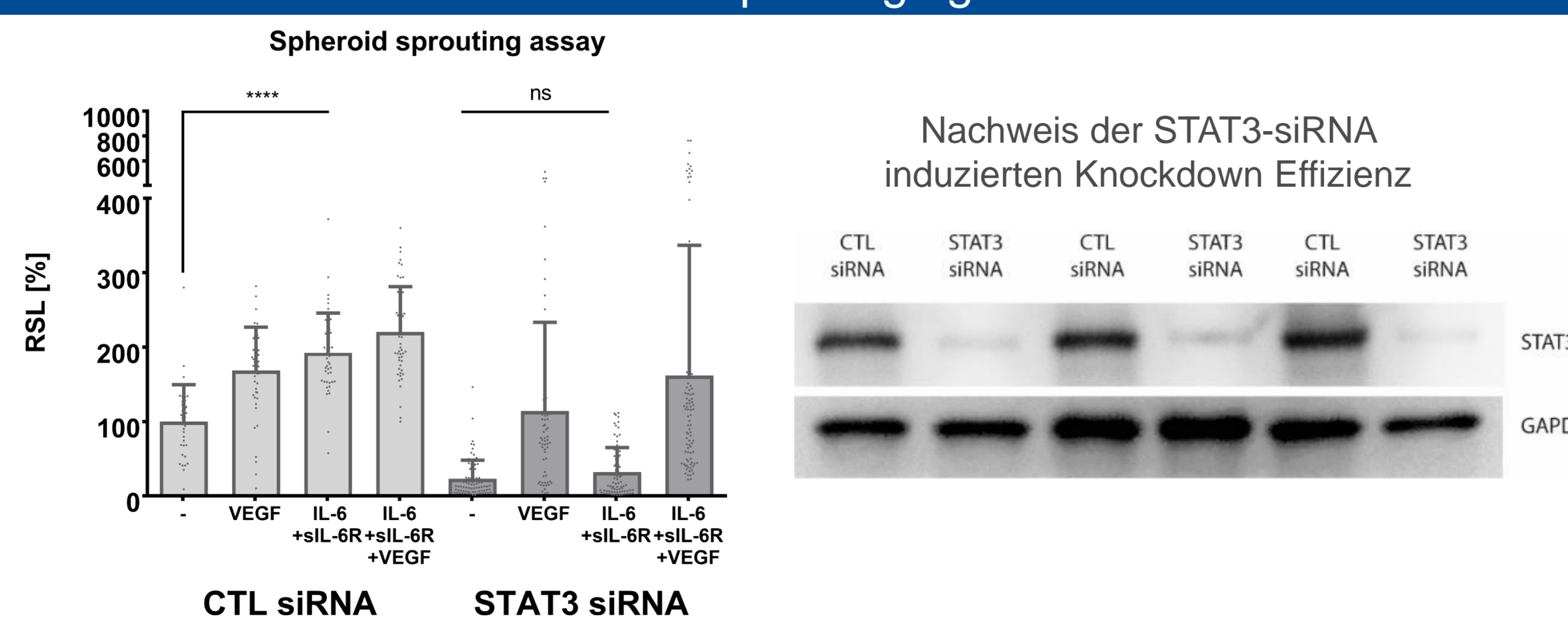
Methodik: ELISA PDR: Proliferative Diabetische Retinopathie Kontrolle: Gliose

3. IL-6+sIL-6R wirkt pro-angiogen auf HUVECs



A) RSL[%]: Relative Sprouting Länge; B) RWD[%]: Zuwachs der relativen Wund Dichte; C) R-Fluorescence[%]: Relative Fluoreszenz mittels CyQUANT® Cell Proliferation Assay Kit A),C) 100% = (-) Mittelwert; B) 100% = Wundfläche bei h=0

4. STAT3-siRNA Knockdown hebt pro-angiogenen Effekt auf



[1] Wu et al., Feb 2020, PMID: 32084272

Ergebnisse

Glaskörper- und Plasma-Spiegel bei Diabetischer Retinopathie (1)

Patienten mit Proliferativer Diabetischer Retinopathie zeigen sowohl erhöhte IL-6, wie sIL-6R Spiegel im Vergleich zu Kontroll-Patienten mit retinaler Gliose.

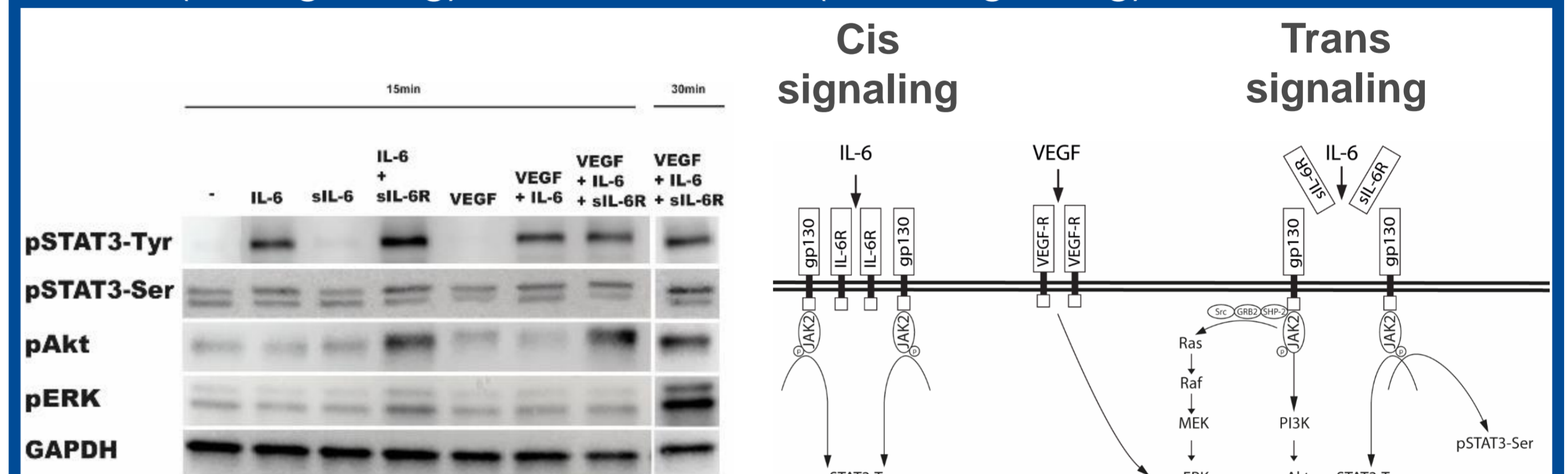
Angiogenese-Assays (3,4)

Das Zusammenspiel von IL-6 und sIL-6R vermittelt ein vermehrtes Sprouting von HUVECs, sowie eine vermehrte Migration und Proliferation. (2) Ein siRNA induzierter STAT3 Knockdown hebt das durch IL-6+sIL-6R induzierte Sprouting auf. (3)

Metabolismus (5)

IL-6+sIL-6R vorbehandelte HUVECs zeigen in einem funktionellen Metabolismus Assay (Seahorse®) eine erhöhte Sauerstoffverbrauchsrate, welcher mit einem gesteigerten Aeroben Metabolismus assoziiert ist. (4a) Ein gesteigerter anaerober Metabolismus, welcher mit einer stärkeren extrazellulären Ansäuerung einhergeht, ist nur bei einer weiteren Co-Stimulation mit VEGF zu sehen. (4b)

2. IL-6 (cis signaling) vs. IL-6+sIL-6R (trans signaling)



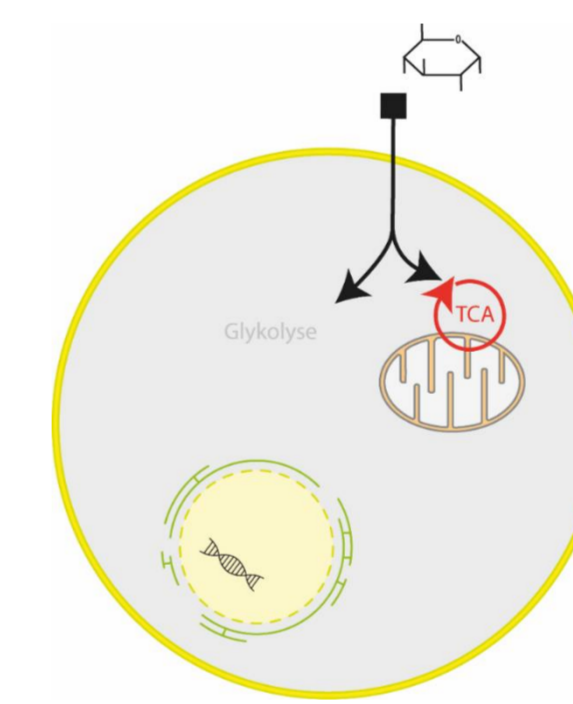
IL-6 cis signaling aktiviert den Transkriptionsfaktor STAT3. IL-6+sIL-6R trans signaling führt zu einer breiteren Aktivierung von proliferations-assoziierten Signalwegen, eine VEGF Co-Stimulation verstärkt diese weiter.

5. Metabolismus

Veränderungen des Metabolismus spielen sowohl beim Diabetes als auch bei der Gefäßneubildung eine zentrale Rolle.

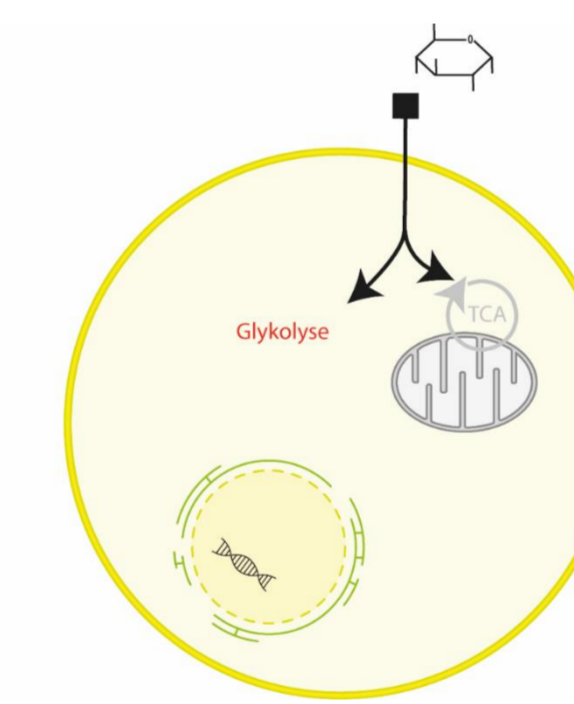
Aerobe Versorgung

- Mitochondrien
- Atmungskette
- O₂-abhängig
- Auswertung über O₂-Verbrauchsrate (OCR) in 5a

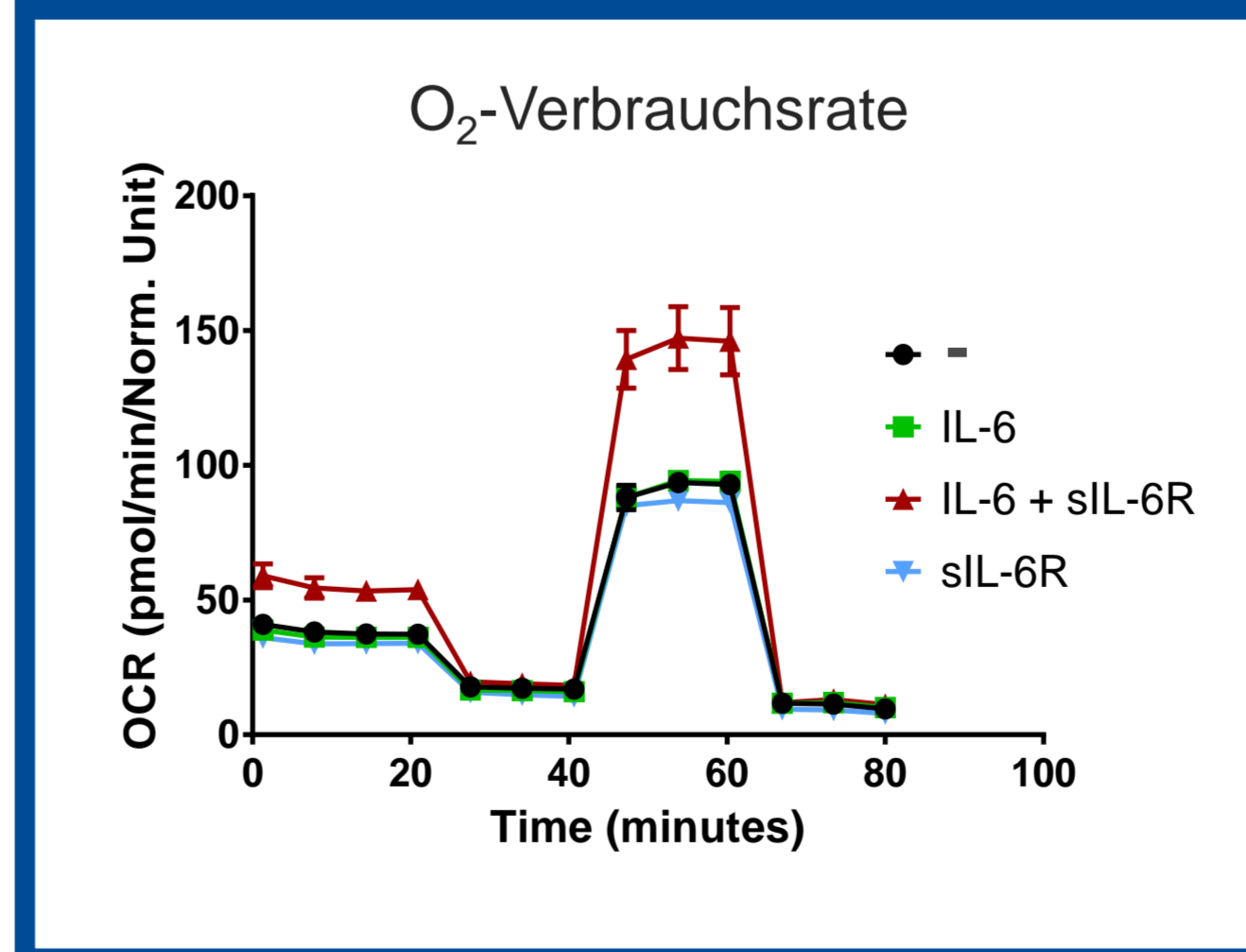


Anaerobe Versorgung

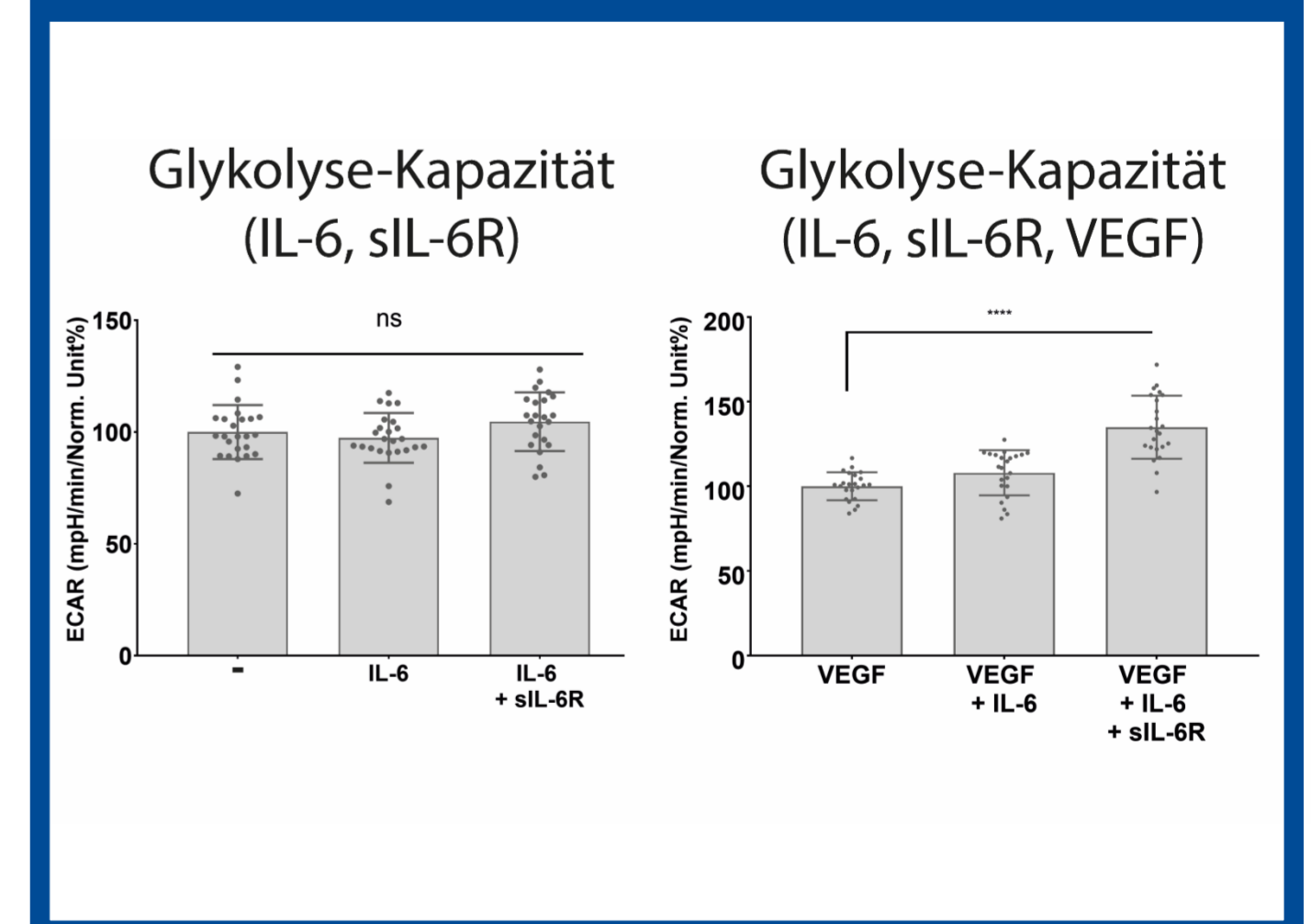
- Zytosol
- Laktatproduktion
- O₂-unabhängig
- Auswertung über extrazelluläre Ansäuerungsrate (ECAR) in 5b



5a. Aerober Metabolismus



5b. Anaerober Metabolismus



Methoden

HUVECs wurden in allen Versuchen mit Basalmedium(-), VEGF(25ng/ml), IL-6(100ng/ml), sIL-6R(200ng/ml) stimuliert

In vitro Angiogenese Assays (3,4)

- STAT3-Knockdown in HUVECs:
 - Knockdown mittels siRNA (15nM) und Lipofectamin 0,4% (4)
- Seahorse® Assay (5a,b)
- Metabolische Analyse über O₂-Verbrauchsrate (OCR) und extrazelluläre Ansäuerung (ECAR)

Unterstützt von ...

DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft

MOTI-VATE
PROMOTIONSKOLLEG DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT FREIBURG