

EPLIN-α and -β Isoforms Modulate Endothelial Cell Dynamics through a Spatiotemporally Differentiated Interaction with Actin

M. Taha[#], M. Aldirawi[#], S. März, J. Seebach, M. Odenthal-Schnittler, O. Bondareva, V. Bojovic, T. Schmandra, B. Wirth, M. Mietkwska, K. Rottner, H. J. Schnittler*

[#] considered first authors



Cell Reports

<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.09.043>

Oktober 2019

Anatomie und Vaskuläre Biologie

Westfälische Wilhelms Universität Münster

Differentielle Modulation der Aktin Dynamik durch EPLIN-α und EPLIN-β Isoformen

von Hans Schnittler
 editiert von Markus Kipp (Rostock)

Der dynamische Umbau von Aktinfilamenten im Endothel kontrolliert zusammen mit den Proteinkomplexen der Zell-Zell- und der Zell-Substratkontakte die Zellmigration bei der Angiogenese und der Wundheilung ebenso wie die Barrierefunktion unter Ruhebedingungen und pathologischen Bedingungen wie z.B. bei der Entzündungsreaktion. Im Endothel können Aktinfilamente als Komponenten verschiedener supramolekular organisierter Zytoskelettstrukturen unterschieden werden. Zu Aktinbündeln zählen die Stressfasern und das Junctionen assoziierte Aktinfilamentsystem (JAAF), während „branched“ Aktinfilamente die Membranprotrusionen wie klassische Lamellipodien (cLP) und „junction associated intermittent lamellipodia“ (JAIL) treiben und über den Rac-abhängigen WAVE/WASP/ARP2 Komplex kontrolliert werden. Aktinbündel sind mit Motorproteinen wie Myosin II assoziiert und haben kontraktile Eigenschaften. Die cLP entstehen an freien Zellrändern z.B. bei der Wundheilung, und die JAIL kontrollieren die Dynamik der Zellkontakte bei der „sheet“ Migration im Rahmen der Angiogenese und der Wundheilung. Bei diesen Prozessen haben die Aktin bindenden Proteine eine wesentliche regulatorische Aufgabe.

Das „Epithelial Protein Lost in Neoplasm“, EPLIN besteht aus zwei Isoformen - dem EPLIN-α und dem EPLIN-β und wurde als ein Aktin bindendes Protein identifiziert. EPLIN wurde entdeckt, da es in verschiedenen Tumoren fehlte (Namensgebung) und mit einer erheblichen Umorganisation des Aktins in diesen Zellen vergesellschaftet war. Welche Funktion die beiden EPLIN-Isoformen jedoch an der Aktindynamik haben, war weitgehend unklar.

Unsere Studie konnte zeigen, dass die Expression von EPLIN-α und EPLIN-β in Endothelzellen in vivo und in der Zellkultur stimulusabhängig (Zellwachstum, Hämodynamik) und differentiell erfolgt, während die Expression von Aktin keinen Unterschied zeigt. Damit wird die Bedeutung der Aktin bindenden Proteine und nicht die Aktinexpression als wesentlicher Regulator der Aktindynamik in den Vordergrund gerückt.

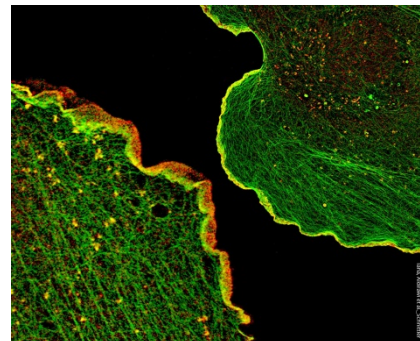
Experimentell konnten diese EPLIN kontrollierten Mechanismen nach selektiver Expression von fluoreszenzmarkierten EPLIN-Isoformen im „fluoreszenz-LifeCell imaging“ auch unter der mechanischen Beanspruchung von Schubspannungen direkt gezeigt werden. (Alle Movies: <https://www.medicin.uni-muenster.de/index.php?id=19436>.)

Im Einzelnen, vergleiche Titel Abbildung oben: EPLIN-β, aber nicht EPLIN-α, wird in Endothelzellen (EC) der Aorta und in schubspannungsexponierten (shear stress) EC im Zellkulturexperiment

deutlich verstärkt exprimiert, während EPLIN-α, aber nicht EPLIN-β in wachsenden EC und unter Wundheilungsbedingungen hoch reguliert ist. Mechanistisch konnten wir zeigen, dass EPLIN-β zu einer Stabilisierung von Aktinbündeln (z.B. Stressfasern) führt und für die Adaptation von EC an Schubspannungen essentiell ist. EPLIN-α kontrolliert die Dynamik der cLP and JAIL, indem diese Proteine die Protrusionsdynamik limitieren und damit für die regelrechte und balancierte Zellmigration bei weitgehend erhaltener Monolayerintegrität mitverantwortlich sind.

An dieser Stelle ist hervorzuheben, dass ohne das Fluoreszenz-LifeCell-imaging (Doppelexpression) des z.B. fluoreszierendem EPLIN-α-EGFP und einem Protein des ARP2/3 Komplexes die mechanistische Bedeutung von EPLIN-α nicht möglich gewesen wäre, da solche diffizilen dynamischen und schnell (Minuten) ablaufenden Prozesse mit „snap shots“ kaum beobachtbar und noch weniger interpretierbar sind (vergleiche Filme).

Die nachfolgende Abbildung (structured illumination microscopy, SIM) zeigt die supramolekulare Organisation von EPLIN-α-EGFP (grün) und dem 2/3-Komplex (antiARP2c) in menschlichen Endothelzellen nach moderater Expression (links unten) und nach Überexpression (rechts oben). Die EPLIN-Überexpression führte zu einer verstärkten Kolo-kalisation mit anti-ARP2c. Dadurch wird die weitere Ausdehnung der Membranprotrusionen terminiert.



Titelabbildung

Das Schema illustriert die mechanistische Bedeutung der EPLIN-Isoformen für die Kontrolle der Aktindynamik.

Weitere Informationen

Institut für Anatomie und Vaskuläre Biologie
 Prof. Hans-Joachim Schnittler, Vesaliusweg 2-4
 48149 Münster Hans.Schnittler@uni-muenster.de