

Zusammenfassung

ECFCs stellen eine *in vitro* effizient expandierbare neue endotheliale Zellquelle dar. Die Proliferationseigenschaften und die morphologische Veränderung von ECFCs *in vitro* weist auf eine hierarchische Entwicklung dieser hin. Die verschiedenen hierarchischen Entwicklungsstufen sollten daher durch spezifische Kombinationen von unterschiedlich exprimierten Oberflächenproteinen dargestellt werden.

Das Oberflächenprotein CD34 wird heterogen auf ECFCs exprimiert. Im Verlauf dieser Arbeit wurde ein Antikörper-basiertes Screening gegen 106 Oberflächenantigene durchgeführt, durch das weitere heterogen exprimierte Marker identifiziert werden sollten. Von den 106 untersuchten Oberflächenproteinen werden 29 auf der Zelloberfläche von ECFCs exprimiert, 13 dieser Oberflächenmarker weisen eine heterogene Expression gegen CD34 auf. Die Oberflächenantigene CD13, CD31, CD40, CD54, CD63, CD102, CD123 und VEGF-R2 waren auf den CD34 positiven Zellen stärker exprimiert, als auf den CD34 negativen/schwach positiven Zellen (Gruppe 1). Die höchste Expression der Oberflächenantigene CD44, CD146, CD151, CD166 und CD252 wurde auf den CD34 negativen Zellen nachgewiesen (Gruppe 2). Die stärkste Auftrennung verschiedener ECFC-Linien gelang mit den Antikörpern gegen das Oberflächenantigen CD34 aus der Gruppe 1 und gegen das Oberflächenantigen CD44 aus der Gruppe 2, wobei die drei Subpopulationen $CD44^{++}CD34^{-}$, $CD44^{+}CD34^{-}$ und $CD44^{+}CD34^{+}$ definiert wurden.

Übereinstimmend mit der Annahme, dass die $CD44^{+}CD34^{+}$ Subpopulation die reiferen Progenitoren beinhaltet, wiesen die Zellen der $CD44^{+}CD34^{+}$ Subpopulation das geringste Expansionspotential auf. Weiterhin wurde der höchste Anteil an mehrkernigen Zellen innerhalb der $CD44^{+}CD34^{+}$ Subpopulation nachgewiesen, ein weiterer Indikator für die Differenzierung dieser Zellen. Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen die Möglichkeit offen, ob sich in der $CD44^{++}CD34^{-}$ Zellfraktion -neben einer Subpopulation primitiver ECFCs- eine Subpopulation von ECFCs befindet, die für eine Umwandlung von $CD44^{++}CD34^{-}$ zu $CD44^{+}CD34^{-}$ und umgekehrt verantwortlich ist. Zur Untersuchung des klonogenen Potentials der Subfraktionen wurden einzelne Zellen kultiviert und ihre Fähigkeit, Kolonien auszubilden, untersucht. Hierbei besaßen die Zellen der $CD44^{++}CD34^{-}$ Zellfraktion das höchste Kolonie-bildende Potential und die höchste Zellteilungsrate im Vergleich zu den Zellen der $CD44^{+}CD34^{-}$ und $CD44^{+}CD34^{+}$ Zellfraktionen. Mit der Hilfe von CD34 und CD44 können ECFCs und HUVECs unterschiedlicher hierarchischer Entwicklungsstufen erfolgreich voneinander unterschieden werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde untersucht, ob Komponenten des Notch-Signalwegs Einfluss auf das Zellschicksal endothelialer Vorläuferzellen ausüben. Durch die Verwendung eines lentiviralen Systems wurden Untersuchungen zum Funktionszugewinn und Funktionsverlust entsprechender Mediatoren des Notch-Signalwegs (NICD1, Hey1, Hey2 und Hes1) und der Zellschicksalsdeterminanten Numb und Numblike durchgeführt.

Ein erhöhter Anteil CD34⁺ Zellen wurde in der Zellfraktion der NICD1 exprimierenden und Hey1, Hey2 und Hes1 überexprimierenden Zellen nachgewiesen, wohingegen im Mittel ein erhöhter Anteil an CD44⁺⁺ Zellen innerhalb der Numb und Numblike überexprimierenden Zellen nachgewiesen werden konnte. Übereinstimmend mit der Implikation, dass das Oberflächenantigen CD34 hauptsächlich auf reifen Endothelzellen exprimiert wird, wiesen die Notch-aktiven HUVECs im Vergleich zu den Kontrollzellen eine verringerte Koloniebildungs- und Zellteilungsrate auf. Im Gegensatz dazu wurde die höchste Koloniebildungs- und Zellteilungsrate innerhalb der Numb- und Numblike überexprimierenden Zellen gefunden. Diese Ergebnisse führen zu der Annahme, dass die Mitglieder des Notch-Signalwegs die Differenzierung von endothelialen Vorläuferzellen initiieren, wohingegen Numb und Numblike die Primitivität der Zellen erhält.