

**Haarwachstumskontrolle durch den Hepatozyten-  
Wachstumsfaktor (HGF/SF)**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
des Fachbereichs Biologie Chemie Pharmazie  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

**Gerd Lindner**

Berlin, Oktober 2000

Die vorliegende Arbeit wurde am Biomedizinischen Forschungszentrum der Charité, Humboldt Universität zu Berlin in der „Arbeitsgruppe Haarforschung“ (Leiter: Prof. Dr. R. Paus) angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. R. Paus

2. Gutachter: Prof. Dr. F. Hucho

Ort und Datum der Disputation: Berlin, 27.02.2001

# Inhaltsübersicht

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. EINLEITUNG</b>  | <b>6</b>  |
| 1.1 HAARWACHSTUM ALS MODELL FÜR EPITHELIAL- MESENCHYMAL INTERAKTIONSSYSTEME | 6         |
| 1.2 DER HEPATOZYTEN-WACHSTUMSFAKTOR   | 14        |
| 1.2.1 Entdeckung  | 14        |
| 1.2.2 Struktur und Aktivierung  | 15        |
| 1.2.3 HGF/SF-Rezeptor   | 18        |
| 1.2.4 Funktionelle Effekte  | 19        |
| 1.3 HAARWUCHSKONTROLLE DURCH HGF/SF: STAND DER FORSCHUNG                    | 22        |
| 1.4 ARBEITSHYPOTHESE  | 23        |
| 1.5 VERWENDETE MODELLSYSTEME  | 23        |
| 1.5.1 C57BL/6-Haarforschungsmodell  | 23        |
| 1.5.2 Pharmakologische Manipulation des Haarzyklus                          | 25        |
| 1.5.3 Mausmutanten  | 26        |
| 1.5.4 Hautorgankulturen   | 27        |
| <b>2. FRAGESTELLUNG</b>   | <b>28</b> |
| <b>3. EXPERIMENTELLE STRATEGIE</b>  | <b>29</b> |
| <b>4. METHODEN</b>  | <b>31</b> |
| 4.1 TIERE   | 31        |
| 4.1.1 C57BL/6- Mäuse  | 31        |
| 4.1.2 Mausmutanten  | 31        |
| 4.2 HAARFOLLIKELANALYSEN  | 32        |
| 4.2.1 Embryonale und neonatale Haarfollikelentwicklung                      | 32        |
| 4.2.2 Mechanische Haarzyklusinduktion durch Depilation                      | 33        |
| 4.2.3 Pharmakologische Anageninduktion durch Cyclosporin A                  | 33        |
| 4.2.4 Pharmakologisch induziertes Katagen                                   | 34        |
| 4.2.5 Gewebeentnahme und Fixation   | 34        |
| 4.2.6 Mikroskopie   | 35        |
| 4.2.7 Quantitative Histomorphometrie und statistische Auswertung            | 36        |
| 4.2.8 Dokumentation in Computerschemata                                     | 37        |
| 4.3 IMMUNHISTOLOGIE   | 37        |
| 4.3.1 HGF/SF-Met-Doppelmarkierung   | 37        |
| 4.3.2 Immunhistochemische Markierung mit Pep-1-Antikörpern                  | 38        |
| 4.3.3 Kombinierte Immunmarkierung mit TUNEL-Technik                         | 39        |
| 4.3.4 Digitale Bildbearbeitung und Photodokumentation                       | 40        |
| 4.4 TUNEL IN SITU- ENDMARKIERUNG  | 41        |
| 4.5 MOLEKULARBIOLOGISCHE METHODEN   | 42        |
| 4.5.1 RNA-Isolierung aus Vollhaut   | 42        |

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| 4.5.2     | <i>Reverse Transkription</i> .....  | 42        |
| 4.5.3     | <i>Semiquantitative Polymerase- Kettenreaktion</i> .....  | 43        |
| 4.5.4     | <i>Genotypisierung</i> .....  | 44        |
| 4.5.5     | <i>Rekombinantes HGF/SF und Antiserum</i> .....   | 45        |
| 4.5.6     | <i>Klonierung/ Transfektion</i> .....   | 45        |
| 4.5.7     | <i>DNA-Konzentrationsbestimmung</i> .....   | 46        |
| 4.5.8     | <i>Agarosegelelektrophorese</i> .....   | 46        |
| 4.5.9     | <i>Alkoholfällung von DNA</i> .....   | 47        |
| 4.5.10    | <i>Plasmidisolierung</i> .....  | 47        |
| 4.5.11    | <i>Synthese der Proben für die In situ- Hybridisierung</i> .....  | 47        |
| 4.5.12    | <i>In-situ-Hybridisierung</i> .....   | 48        |
| 4.6       | FUNKTIONELLE STUDIEN MIT REKOMBINANTEM HGF/SF .....   | 50        |
| 4.6.1     | <i>In vivo-Applikation</i> .....  | 50        |
| 4.6.2     | <i>Hautorgankulturen</i> .....  | 51        |
| 4.6.3     | <i>In vivo- Implantation</i> .....  | 51        |
| <b>5.</b> | <b>MATERIALIEN</b> .....  | <b>53</b> |
| 5.1       | GERÄTE .....  | 53        |
| 5.2       | CHEMIKALIEN UND LÖSUNGEN .....  | 53        |
| 5.2.1     | <i>Enzyme und Längenstandards</i> .....   | 54        |
| 5.2.2     | <i>Säulenmaterial</i> .....   | 54        |
| 5.2.3     | <i>Medien und Puffer</i> .....  | 55        |
| 5.2.4     | <i>Kits</i> .....   | 55        |
| <b>6.</b> | <b>ERGEBNISSE</b> .....   | <b>56</b> |
| 6.1       | MET- GENEXPRESSION IN NORMALER MAUSHAUT IST HAARZYKLUS- ABHÄNGIG .....  | 56        |
| 6.2       | HGF/SF- mRNA IST IM FOLLIKELMESENCHYM UND MET- mRNA IM<br>BENACHBARTEN FOLLIKELEPITHEL EXPRIMIERT .....   | 58        |
| 6.3       | DIE HGF/SF- UND MET- PROTEINEXPRESSION <i>IN SITU</i> ZEIGT EINE SPEZIFISCHE<br>SPATIOTEMPORALE VERTEILUNG WÄHREND DEFINIERTER STADIEN DER<br>HAARFOLLIKELMORPHOGENESE UND DES HAARZYKLUS ..... | 60        |
| 6.4       | APOPTOSE UND MET- EXPRESSION SIND INVERS KORRELIERT .....   | 68        |
| 5.5       | CYCLOPHOSPHAMID UND CYCLOSPORIN A MANIPULIERT DIE HGF/SF- UND MET-<br>EXPRESSION IM PROXIMALEN HAARFOLLIKEL .....   | 68        |
| 5.6       | HGF/SF- UND MET- "KNOCKOUT"- MÄUSE ZEIGEN WÄHREND DER FRÜHEN<br>HAARFOLLIKELMORPHOGENESE STRUKTURELLE VERÄNDERUNGEN .....   | 72        |
| 5.7       | HGF/SF-ÜBEREXPRESSION BESCHLEUNIGT DIE HAARFOLLIKELMORPHOGENESE.....  | 74        |
| 5.8       | DIE FOLLIKELREGRESSION (KATAGEN) IST IN HGF/SF- TRANSGENEN TIEREN<br>SIGNIFIKANT VERZÖGERT .....  | 77        |
| 5.9       | HGF/SF- TRANSGENE MÄUSE ENTWICKELN MASSIVE ANOMALIEN IN DER HAUT-   |           |

|   |            |
|---|------------|
| UND HAARFOLLIKELMORPHOLOGIE, DER FOLLIKEL-PIGMENTEINHEIT SOWIE DER<br>KONSTITUTIVEN HGF/SF- UND MET-EXPRESSION .....          | 79         |
| 5.10 HGF/SF- INJEKTION <i>IN VIVO</i> VERZÖGERT DIE KATAGENENTWICKLUNG .....  | 83         |
| 5.11 HGF/SF VERZÖGERT DIE FOLLIKELREGRESSION IN HAUTORGANKULTUREN .....   | 85         |
| 5.12 DIE INTRADERMALE IMPLANTATION HGF/SF-GETRÄNKTER AGAROSE-KÜGELCHEN<br>INDUZIERT BESCHLEUNIGTES HAARFOLLIKELWACHSTUM ..... | 87         |
| <b>7. DISKUSSION</b> .....  | <b>89</b>  |
| <b>8. LITERATUR</b> .....   | <b>100</b> |
| <b>9. ZUSAMMENFASSUNG</b> .....   | <b>115</b> |
| <b>10. ANHANG</b> .....   | <b>116</b> |
| 10.1 LEBENSLAUF .....   | 116        |
| 10.2 PUBLIKATIONSLISTE .....  | 118        |
| 10.3 DANKSAGUNG .....   | 120        |
| 10.4 ABKÜRZUNGEN .....  | 122        |
| 10.5 ERKLÄRUNG .....  | 123        |

## Literatur

1. Straile, W.Z., Chase, H.B., and Arsenault, C. (1961) Growth and differentiation of hair follicles between activity and quescence. *J Exp Zool* 148, 205-222.
2. Paus, R. (1998) Principles of hair cycle control. *J Dermatol* 25, 793-802.
3. Paus, R. (1996) Control of the hair cycle and hair diseases as cycling disorders. *Curr Opin Dermatol* 3, 248-258.
4. Stenn, K.S., Combates, N.J., Eilertsen, K.J., Gordon, J.S., Pardinias, J.R., Paromoo, S., and Prouty, S.M. (1996) Hair follicle growth control. *Dermatol Clin* 14, 543-557.
5. Paus, R., Müller-Röver, S., van der Veen, C., Maurer, M., Eichmüller, S., Ling, G., Hofmann, U., Foitzik, K., Mecklenburg, L., and Handjiski, B. (1999) A comprehensive guide for the recognition and classification of distinct stages of hair follicle morphogenesis. *J Invest Dermatol* 113, 523-532.
6. Hardy, M.H. (1992) The secret life of the hair follicle. *Trends Genet* 8, 55-61.
7. Botchkarev, V.A., Botchkareva, N.V., Roth, W., Nakamura, M., Chen, L.H., Herzog, W., Lindner, G., McMahon, J.A., Peters, C., Lauster, R., (1999) Noggin is a mesenchymally derived stimulator of hair-follicle induction. *Nat Cell Biol* 1, 158-164.
8. Oro, A.E. and Scott, M.P. (1998) Splitting hairs: dissecting roles of signaling systems in epidermal development. *Cell* 95, 575-578.
9. Paus, R. and Cotsarelis, G. (1999) The biology of hair follicles. *N Engl J Med* 341, 491-497.
10. Philpott, M.F. and Paus, R., *Principles of hair follicle morphogenesis*, in *Molecular Biology of Skin Appendages Morphogenesis*, C.M. Chuong, Editor. 1998, Landes Bioscience Publ.: Austin, TX. p. 75-103.
11. Vielkind, U., Sebzda, M.K., Gibson, I.R., and Hardy, M.H. (1995) Dynamics of Merkel cell patterns in developing hair follicles in the dorsal skin of mice, demonstrated by a monoclonal antibody to mouse keratin 8. *Acta Anat.* 152, 93-109.

12. Paus, R., Müller-Röver, S., and Botchkarev, V. (1999) Chronobiology of the hair follicle: hunting the hair cycle clock. *J Invest Dermatol Symp Proc* 4, 338-345.
13. Weedon, D. and Strutton, G. (1984) The recognition of early stages of catagen. *Am J Dermatopathol* 6, 553-555.
14. Polakowska, R.R., Piacentini, M., Bartlett, R., Goldsmith, L.A., and Haake, A.R. (1994) Apoptosis in human skin development: morphogenesis, periderm, and stem cells. *Dev Dyn* 199, 176-188.
15. Lindner, G., Botchkarev, V.A., Botchkareva, N.V., Ling, G., van der Veen, C., and Paus, R. (1997) Analysis of apoptosis during hair follicle regression (catagen). *Am J Pathol* 151, 1601-1617.
16. Cotsarelis, G., Sun, T.T., and Lavker, R.M. (1990) Label-retaining cells reside in the bulge area of pilosebaceous unit: implications for follicular stem cells, hair cycle, and skin carcinogenesis. *Cell* 61, 1329-1337.
17. Paus, R., Handjiski, B., Czarnetzki, B.M., and Eichmüller, S. (1994) A murine model for inducing and manipulating hair follicle regression (catagen): effects of dexamethasone and cyclosporin A. *J Invest Dermatol* 103, 143-147.
18. Stenn, K.S. and Paus, R. (1999) What controls hair follicle cycling? *Exp Dermatol* 8, 229-233.
19. St-Jacques, B., Dassule, H.R., Karavanova, I., Botchkarev, V.A., Li, J., Danielian, P.S., McMahon, J.A., Lewis, P.M., Paus, R., and McMahon, A.P. (1998) Sonic hedgehog signaling is essential for hair development. *Curr Biol* 8, 1058-1068.
20. Foitzik, K., Paus, R., Doetschman, T., and Dotto, G.P. (1999) The TGF-beta2 isoform is both a required and sufficient inducer of murine hair follicle morphogenesis. *Dev Biol* 212, 278-289.
21. Gat, U., DasGupta, R., Degenstein, L., and Fuchs, E. (1998) De Novo hair follicle morphogenesis and hair tumors in mice expressing a truncated beta-catenin in skin. *Cell* 95, 605-614.
22. Paus, R. and Cotsarelis, G. (1999) Hair follicle biology in health and disease. *N Engl J Med* 341, 491-497.

23. Nakamura, T., Nawa, K., Ichihara, A., Kaise, N., and Nishino, T. (1987) Purification and subunit structure of hepatocyte growth factor from rat platelets. *FEBS Lett* 224, 311-316.
24. Stoker, M., Gherardi, E., Perryman, M., and Gray, J. (1987) Scatter factor is a fibroblast-derived modulator of epithelial cell mobility. *Nature* 327, 239-242.
25. Gherardi, E., Gray, J., Stoker, M., Perryman, M., and Furlong, R. (1989) Purification of scatter factor, a fibroblast-derived basic protein that modulates epithelial interactions and movement. *Proc Natl Acad Sci* 86, 5844-5848.
26. Weidner, K.M., Arakaki, N., Hartmann, G., Vandekerckhove, J., Weingart, S., Rieder, H., Fonatsch, C., Tsubouchi, H., Hishida, T., Daikuhara, Y., (1991) Evidence for the identity of human scatter factor and human hepatocyte growth factor. *Proc Natl Acad Sci* 88, 7001-7005.
27. Naldini, L., Weidner, K.M., Vigna, E., Gaudino, G., Bardelli, A., Ponzetto, C., Narsimhan, R.P., Hartmann, G., Zarnegar, R., Michalopoulos, G.K., (1991) Scatter factor and hepatocyte growth factor are indistinguishable ligands for the MET receptor. *EMBO J* 10, 2867-2878.
28. Stuart, K.A., Riordan, S.M., Lidder, S., Crostella, L., Williams, R., and Skouteris, G.G. (2000) Hepatocyte growth factor/scatter factor-induced intracellular signalling. *Int J Exp Pathol* 81, 17-30.
29. Stella, M.C. and Comoglio, P.M. (1999) HGF: a multifunctional growth factor controlling cell scattering. *Int J Biochem Cell Biol* 31, 1357-1362.
30. Mizuno, K. and Nakamura, T. (1993) Molecular characteristics of HGF and the gene, and its biochemical aspects. *Exs* 65, 1-29.
31. Montesano, R., Soriano, J.V., Malinda, K.M., Ponce, M.L., Bafico, A., Kleinman, H.K., Bottaro, D.P., and Aaronson, S.A. (1998) Differential effects of hepatocyte growth factor isoforms on epithelial and endothelial tubulogenesis. *Cell Growth Differ* 9, 355-365.
32. Rosen, E., Nigam, S., and Goldberg, I. (1994) Scatter factor and the c-met receptor: a paradigm for mesenchymal/epithelial interaction. *J Cell Biol* 127, 1783-1787.



33. Jiang, J.G., Bell, A., Liu, Y., and Zarnegar, R. (1997) Transcriptional regulation of the hepatocyte growth factor gene by the nuclear receptors chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor and estrogen receptor. *J Biol Chem* 272, 3928-3934.
34. Liu, Y., Michalopoulos, G.K., and Zarnegar, R. (1994) Structural and functional characterization of the mouse hepatocyte growth factor gene promoter. *J Biol Chem* 269, 4152-4160.
35. Rubin, J.S., Chan, A.M., Bottaro, D.P., Burgess, W.H., Taylor, W.G., Cech, A.C., Hirschfield, D.W., Wong, J., Miki, T., Finch, P.W., (1991) A broad-spectrum human lung fibroblast-derived mitogen is a variant of hepatocyte growth factor. *Proc Natl Acad Sci* 88, 415-419.
36. Weidner, K.M., Hartmann, G., Sachs, M., and Birchmeier, W. (1993) Properties and functions of scatter factor/hepatocyte growth factor and its receptor c-Met. *Am J Respir Cell Mol Biol* 8, 229-237.
37. Zarnegar, R. and Michalopoulos, G. (1995) The many faces of hepatocyte growth factor: from hepatopoiesis to hematopoiesis. *J Cell Biol* 129, 1177-1180.
38. Trusolino, L., Pugliese, L., and Comoglio, P.M. (1998) Interactions between scatter factors and their receptors: hints for therapeutic applications. *FASEB J* 12, 1267-1280.
39. Birchmeier, C. and Gherardi, E. (1998) Developmental roles of HGF/SF and its receptor, the c-Met tyrosine kinase. *Trends Cell Biol* 8, 404-410.
40. Gherardi, E., Sharpe, M., and Lane, K. (1993) Properties and structure-function relationship of HGF-SF. *Exs* 65, 31-48.
41. Gherardi, E., Gonzalez Manzano, R., Cottage, A., Hawker, K., and Aparicio, S. (1997) Evolution of plasminogen-related growth factors (HGF/SF and HGF1/MSP). *Ciba Found Symp* 212, 24-35.
42. Birchmeier, C., Bladt, F., and Yamaai, T. (1997) The functions of HGF/SF and its receptor, the c-Met tyrosine kinase, in mammalian development. *Ciba Found Symp* 212, 169-177.

43. Jiang, W.G. and Hiscox, S. (1997) Hepatocyte growth factor/scatter factor, a cytokine playing multiple and converse roles. *Histol Histopathol* 12, 537-555.
44. Matsumoto, K. and Nakamura, T. (1996) Emerging multipotent aspects of hepatocyte growth factor. *J Biochem* 119, 591-600.
45. Hartmann, G., Naldini, L., Weidner, K.M., Sachs, M., Vigna, E., Comoglio, P.M., and Birchmeier, W. (1992) A functional domain in the heavy chain of scatter factor/hepatocyte growth factor binds the c-Met receptor and induces cell dissociation but not mitogenesis. *Proc Natl Acad Sci* 89, 11574-11578.
46. Weidner, K.M., Hartmann, G., Naldini, L., Comoglio, P.M., Sachs, M., Fonatsch, C., Rieder, H., and Birchmeier, W. (1993) Molecular characteristics of HGF-SF and its role in cell motility and invasion. *Exs* 65, 311-328.
47. Jakubczak, J.L., LaRochelle, W.J., and Merlino, G. (1998) NK1, a natural splice variant of hepatocyte growth factor/scatter factor, is a partial agonist in vivo. *Mol Cell Biol* 18, 1275-1283.
48. Parr, C., Hiscox, S., Nakamura, T., Matsumoto, K., and Jiang, W.G. (2000) Nk4, a new HGF/SF variant, is an antagonist to the influence of HGF/SF on the motility and invasion of colon cancer cells. *Int J Cancer* 85, 563-570.
49. Jiang, W.G., Hiscox, S.E., Parr, C., Martin, T.A., Matsumoto, K., Nakamura, T., and Mansel, R.E. (1999) Antagonistic effect of NK4, a novel hepatocyte growth factor variant, on in vitro angiogenesis of human vascular endothelial cells. *Clin Cancer Res* 5, 3695-3703.
50. Hiscox, S., Parr, C., Nakamura, T., Matsumoto, K., Mansel, R.E., and Jiang, W.G. (1999) Inhibition of HGF/SF-induced breast cancer cell motility and invasion by the HGF/SF variant, NK4. *Breast Cancer Res Treat* 59, 245-254.
51. Birchmeier, C., Sonnenberg, E., Weidner, K., and Walter, B. (1993) Tyrosine kinase receptors in the control of epithelial growth and morphogenesis during development. *Bioessays* 15, 185-190.

52. Weidner, K.M., Sachs, M., and Birchmeier, W. (1993) The Met receptor tyrosine kinase transduces motility, proliferation, and morphogenic signals of scatter factor/hepatocyte growth factor in epithelial cells. *J Cell Biol* 121, 145-154.
53. Sonnenberg, E., Meyer, D., Weidner, K.M., and Birchmeier, C. (1993) Scatter factor/hepatocyte growth factor and its receptor, the c-met tyrosine kinase, can mediate a signal exchange between mesenchyme and epithelia during mouse development. *J Cell Biol* 123, 223-235.
54. Ponzetto, C., Bardelli, A., Zhen, Z., Maina, F., dalla Zonca, P., Giordano, S., Graziani, A., Panayotou, G., and Comoglio, P.M. (1994) A multifunctional docking site mediates signaling and transformation by the hepatocyte growth factor/scatter factor receptor family. *Cell* 77, 261-271.
55. Weidner, K.M., Di Cesare, S., Sachs, M., Brinkmann, V., Behrens, J., and Birchmeier, W. (1996) Interaction between Gab1 and the c-Met receptor tyrosine kinase is responsible for epithelial morphogenesis. *Nature* 384, 173-176.
56. Sakkab, D., Lewitzky, M., Posern, G., Schaeper, U., Sachs, M., Birchmeier, W., and Feller, S.M. (2000) Signaling of hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF) to the small GTPase Rap1 via the large docking protein Gab1 and the adapter protein CRKL. *J Biol Chem* 275, 10772-10778.
57. Schaeper, U., Gehring, N.H., Fuchs, K.P., Sachs, M., Kempkes, B., and Birchmeier, W. (2000) Coupling of Gab1 to c-Met, Grb2, and Shp2 mediates biological responses. *J Cell Biol* 149, 1419-1432.
58. Sachs, M., Brohmann, H., Zechner, D., Muller, T., Hulsken, J., Walther, I., Schaeper, U., Birchmeier, C., and Birchmeier, W. (2000) Essential role of Gab1 for signaling by the c-Met receptor in vivo. *J Cell Biol* 150, 1375-1384.
59. Ponzetto, C., Zhen, Z., Audero, E., Maina, F., Bardelli, A., Basile, M.L., Giordano, S., Narsimhan, R., and Comoglio, P. (1996) Specific uncoupling of GRB2 from the Met receptor. Differential effects on transformation and motility. *J Biol Chem* 271, 14119-14123.

60. Ridley, A.J., Comoglio, P.M., and Hall, A. (1995) Regulation of scatter factor/hepatocyte growth factor responses by Ras, Rac, and Rho in MDCK cells. *Mol Cell Biol* 15, 1110-1122.
61. Giordano, S., Zhen, Z., Medico, E., Gaudino, G., Galimi, F., and Comoglio, P.M. (1993) Transfer of motogenic and invasive response to scatter factor/hepatocyte growth factor by transfection of human MET protooncogene. *Proc Natl Acad Sci* 90, 649-653.
62. Boccaccio, C., Ando, M., Tamagnone, L., Bardelli, A., Michieli, P., Battistini, C., and Comoglio, P.M. (1998) Induction of epithelial tubules by growth factor HGF depends on the STAT pathway. *Nature* 391, 285-288.
63. Longati, P., Albero, D., and Comoglio, P. (1996) Hepatocyte growth factor is a pleiotropic factor protecting epithelial cells from apoptosis. *Cell Death Diff* 3, 23-28.
64. Bardelli, A., Longati, P., Albero, D., Goruppi, S., Schneider, C., Ponzetto, C., and Comoglio, P.M. (1996) HGF receptor associates with the anti-apoptotic protein BAG-1 and prevents cell death. *EMBO J* 15, 6205-6212.
65. Matsumoto, K., Hashimoto, K., Yoshikawa, K., and Nakamura, T. (1991) Marked stimulation of growth and motility of human keratinocytes by hepatocyte growth factor. *Exp Cell Res* 196, 114-120.
66. Tajima, H., Matsumoto, K., and Nakamura, T. (1992) Regulation of cell growth and motility by hepatocyte growth factor and receptor expression in various cell species. *Exp Cell Res* 202, 423-431.
67. Matsumoto, K. and Nakamura, T. (1991) Hepatocyte growth factor: molecular structure and implications for a central role in liver regeneration. *J Gastroenterol Hepatol* 6, 509-519.
68. Mildner, M., Eckhart, L., Lengauer, B., and Tschachler, E. (1999) Hepatocyte growth factor/scatter factor inhibits UVB induced apoptosis of human keratinocytes via the PI-3-kinase pathway. *J Invest Dermatol* 113, 1136-1137.
69. Rosen, E.M., Grant, D.S., Kleinman, H.K., Goldberg, I.D., Bhargava, M.M., Nickoloff, B.J., Kinsella, J.L., and Polverini, P. (1993) Scatter factor

- (hepatocyte growth factor) is a potent angiogenesis factor in vivo. *Symp Soc Exp Biol* 47, 227-234.
70. Gille, J., Khalik, M., Konig, V., and Kaufmann, R. (1998) Hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) induces vascular permeability factor (VPF/VEGF) expression by cultured keratinocytes. *J Invest Dermatol* 111, 1160-1165.
  71. Jiang, W.G. and Harding, K.G. (1998) Enhancement of wound tissue expansion and angiogenesis by matrix- embedded fibroblast (dermagraft), a role of hepatocyte growth factor/scatter factor. *Int J Mol Med* 2, 203-210.
  72. Matsumoto, K. and Nakamura, T. (1993) Roles of HGF as a pleiotropic factor in organ regeneration. *Exs* 65, 225-249.
  73. Shimaoka, S., Tsuboi, R., Jindo, T., Imai, R., Takamori, K., Rubin, J.S., and Ogawa, H. (1995) Hepatocyte growth factor/scatter factor expressed in follicular papilla cells stimulates human hair growth in vitro. *J Cell Physiol* 165, 333-338.
  74. Jindo, T., Tsuboi, R., Imai, R., Takamori, K., Rubin, J.S., and Ogawa, H. (1994) Hepatocyte growth factor/scatter factor stimulates hair growth of mouse vibrissae in organ culture. *J Invest Dermatol* 103, 306-309.
  75. Jindo, T., Tsuboi, R., Takamori, K., and Ogawa, H. (1998) Local injection of hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) alters cyclic growth of murine hair follicles. *J Invest Dermatol* 110, 338-342.
  76. Yamazaki, M., Tsuboi, R., Lee, Y.R., Ishidoh, K., Mitsui, S., and Ogawa, H. (1999) Hair cycle-dependent expression of hepatocyte growth factor (HGF) activator, other proteinases, and proteinase inhibitors correlates with the expression of HGF in rat hair follicles. *J Invest Dermatol Symp Proc* 4, 312-315.
  77. Li, L., Paus, R., Slominski, A., and Hoffman, R.M. (1992) Skin histoculture assay for studying the hair cycle. *In Vitro Cell. Dev. Biol* 28, 695-698.
  78. Li, L. and Hoffman, R.M. (1995) The feasibility of targeted selective gene therapy of the hair follicle. *Nature Med* 1, 705-706.

79. Philpott, M.P., Sanders, D.A., and Kealey, T. (1996) Whole hair follicle culture. *Dermatol Clin* 14, 595-607.
80. Chase, H.B. (1954) Growth of the hair. *Physiol.Rev.* 34, 113-126.
81. Slominski, A., Paus, R., Plonka, P., Chakraborty, A., Maurer, M., Pruski, D., and Lukiewicz, S. (1994) Melanogenesis during the anagen-catagen-telogen transformation of the murine hair cycle. *J Invest Dermatol* 102, 862-869.
82. Paus, R., Handjiski, B., Eichmüller, S., and Czarnecki, B.M. (1994) Chemotherapy-induced alopecia in mice. Induction by cyclophosphamide, inhibition by cyclosporine A, and modulation by dexamethasone. *Am J Pathol* 144, 719-734.
83. Paus, R., Schilli, M.B., Handjiski, B., Menrad, A., Henz, B.M., and Plonka, P. (1996) Topical calcitriol enhances normal hair regrowth but does not prevent chemotherapy-induced alopecia in mice. *Cancer Res* 56, 4438-4443.
84. Paus, R., Stenn, K.S., and Link, R.E. (1990) Telogen skin contains an inhibitor of hair growth. *Br J Dermatol* 122, 777-784.
85. Paus, R., Foitzik, K., Welker, P., Bulfone-Paus, S., and Eichmüller, S. (1997) Transforming growth factor-beta receptor type I and type II expression during murine hair follicle development and cycling. *J Invest Dermatol* 109, 518-526.
86. Slominski, A. and Paus, R. (1993) Melanogenesis is coupled to murine nagen: toward new concepts for the role of melanocytes and the regulation of melanogenesis in hair growth. *J Invest Dermatol* 101, 90-97.
87. Kaufmann, S.H. (1996) Proteolytic cleavage during chemotherapy induced apoptosis. *Mol Medicine Today* 2, 298-303.
88. Maurer, M., Handjiski, B., and Paus, R. (1997) Hair growth modulation by topical immunophilin ligands: induction of anagen, inhibition of massive catagen development, and relative protection from chemotherapy induced alopecia. *Am J Path* 150, 1433-1441.

89. White, E. (1996) Life, death, and the pursuit of apoptosis. *Genes Dev* 10, 1-15.
90. Yo, Y., Morishita, R., Nakamura, S., Tomita, N., Yamamoto, K., Moriguchi, A., Matsumoto, K., Nakamura, T., Higaki, J., and Ogihara, T. (1998) Potential role of hepatocyte growth factor in the maintenance of renal structure: anti-apoptotic action of HGF on epithelial cells. *Kidney Int* 54, 1128-1138.
91. Paus, R., Stenn, K.S., and Link, R.E. (1989) The induction of anagen hair growth in telogen mouse skin by cyclosporine A administration. *Lab Invest* 60, 365-369.
92. Schmidt, C., Bladt, F., Goedecke, S., Brinkmann, V., Zschesche, W., Sharpe, M., Gherardi, E., and Birchmeier, C. (1995) Scatter factor/hepatocyte growth factor is essential for liver development. *Nature* 373, 699-702.
93. Bladt, F., Riethmacher, D., Isenmann, S., Aguzzi, A., and Birchmeier, C. (1995) Essential role for the c-met receptor in the migration of myogenic precursor cells into the limb bud. *Nature* 376, 768-771.
94. Botchkarev, V.A., Botchkarev, N.V., Albers, K.M., van der Veen, C., Lewin, G.R., and Paus, R. (1998) Neurotrophin-3 involvement in the regulation of hair follicle morphogenesis. *J Invest Dermatol* 111, 279-285.
95. Botchkarev, V.A., Welker, P., Albers, K.M., Botchkareva, N.V., Metz, M., Lewin, G.R., Bulfone-Paus, S., Peters, E.M., Lindner, G., and Paus, R. (1998) A new role for neurotrophin-3: involvement in the regulation of hair follicle regression (catagen). *Am J Pathol* 153, 785-799.
96. Botchkareva, N.V., Botchkarev, V.A., Chen, L.H., Lindner, G., and Paus, R. (1999) A role for p75 neurotrophin receptor in the control of hair follicle morphogenesis. *Dev Biol* 216, 135-153.
97. Takayama, H., La Rochelle, W.J., Anver, M., Bockman, D.E., and Merlin, G. (1996) Scatter factor/hepatocyte growth factor as a regulator of skeletal muscle and neural crest development. *Proc Natl Acad Sci* 93, 5866-5871.

98. Jhappan, C., Stahle, C., Harkins, R.N., Fausto, N., Smith, G.H., and Merlino, G.T. (1990) TGF alpha overexpression in transgenic mice induces liver neoplasia and abnormal development of the mammary gland and pancreas. *Cell* 61, 1137-1146.
99. Takayama, H., LaRochelle, W.J., Sharp, R., Otsuka, T., Kriebel, P., Anver, M., Aaronson, S.A., and Merlino, G. (1997) Diverse tumorigenesis associated with aberrant development in mice overexpressing hepatocyte growth factor/scatter factor. *Proc Natl Acad Sci* 94, 701-706.
100. Paus, R., Lüftl, M., and Czarnecki, B.M. (1994) Nerve growth factor modulates keratinocyte proliferation in murine skin organ culture. *Br J Dermatol* 130, 174-180.
101. Paus, R., Hofmann, U., Eichmüller, S., and Czarnecki, B.M. (1994) Distribution and changing density of gamma-delta T cells in murine skin during the induced hair cycle. *Br J Dermatol* 130, 281-289.
102. Botchkarev, V.A., Botchkareva, N.V., Welker, P., Metz, M., Lewin, G.R., Subramaniam, A., Bulfone-Paus, S., Hagen, E., Braun, A., Lommatzsch, M., (1999) A new role for neurotrophins: involvement of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-4 in hair cycle control. *FASEB J* 13, 395-410.
103. Andermarcher, E., Surani, M., and Gherardi, E. (1996) Co-expression of the HGF/SF and c-met genes during early mouse embryogenesis precedes reciprocal expression in adjacent tissues during organogenesis. *Dev Genet* 18, 254-266.
104. Woolf, A.S., Kolatsi-Joannou, M., Hardman, P., Andermarcher, E., Moorby, C., Fine, L.G., Jat, P.S., Noble, M.D., and Gherardi, E. (1995) Roles of hepatocyte growth factor/scatter factor and the met receptor in the early development of the metanephros. *J Cell Biol* 128, 171-184.
105. Jimenez-Cervantes, C., Solano, F., Lozano, J.A., and Garcia-Borron, J.C. (1994) Tyrosinase isoenzymes: two melanosomal tyrosinases with different kinetic properties and susceptibility to inhibition by calcium. *Pigment Cell Res* 7, 291-297.



106. Arends, M.J., Morris, R.G., and Wyllie, A.H. (1990) Apoptosis. The role of the endonuclease. *Am J Pathol* 136, 593-608.
107. Gavrieli, Y., Sherman, Y., and Ben Sasson, S.A. (1992) Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 119, 493-501.
108. Enari, M., Talanian, R.V., Wong, W.W., and Nagata, S. (1996) Sequential activation of ICE-like and CPP32-like proteases during Fas-mediated apoptosis. *Nature* 380, 723-726.
109. Fearnhead, H.O., MacFarlane, M., Dinsdale, D., and Cohen, G.M. (1995) DNA degradation and proteolysis in thymocyte apoptosis. *Toxicol Lett* 83, 135-141.
110. Zhivotovsky, B., Gahm, A., Ankarcrona, M., Nicotera, P., and Orrenius, S. (1995) Multiple proteases are involved in thymocyte apoptosis. *Exp Cell Res* 221, 404-412.
111. Pethö-Schramm, A., Müller, H.-J., and Paus, R. (1996) FGF5 and the murine hair cycle. *Arch Derm Res* 288, 264-266.
112. Sonnenberg, E., Weidner, K.M., and Birchmeier, C. (1993) Expression of the met-receptor and its ligand, HGF-SF during mouse embryogenesis. *Exs* 65, 381-394.
113. Ting-Berreth, S.A. and Chuong, C.M. (1996) Sonic Hedgehog in feather morphogenesis: induction of mesenchymal condensation and association with cell death. *Dev Dyn* 207, 157-170.
114. Welker, P., Foitzik, K., Bulfone-Paus, S., Henz, B.M., and Paus, R. (1997) Hair cycle-dependent changes in the gene expression and protein content of transforming growth factor beta1 and beta3 in murine skin. *Arch Derm Res* 289, 554-557.
115. Kos, L., Aronzon, A., Takayama, H., Maina, F., Ponzetto, C., Merlino, G., and Pavan, W. (1999) Hepatocyte growth factor/scatter factor-MET signaling in neural crest-derived melanocyte development. *Pigment Cell Res* 12, 13-21.

116. Hansen, L.S., Coggle, J.E., Wells, J., and Charles, M.W. (1984) The influence of the hair cycle on the thickness of mouse skin. *Anat Rec* 210, 569-573.
117. Lindner, G., Rückert, R., Bulfone-Paus, S., and Paus, R. (1997) Inhibition of chemotherapy-induced keratinocyte apoptosis *in vivo* by an Interleukin-15-IgG fusion protein. *J Invest Dermatol* 110, 457-458.
118. Peus, D. and Pittelkow, M.R. (1996) Growth factors in hair organ development and the hair growth cycle. *Dermatol Clin* 14, 559-572.
119. Botchkareva, N.V., Botchkarev, V.A., Albers, K.M., Metz, M., and Paus, R. (2000) Distinct roles for nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in controlling the rate of hair follicle morphogenesis. *J Invest Dermatol* 114, 314-320.
120. Müller-Röver, S., Rossiter, H., Paus, R., Handjiski, B., Peters, E.M., Murphy, J.E., Mecklenburg, L., and Kupper, T.S. (2000) Overexpression of bcl-2 protects from ultraviolet B-induced apoptosis but promotes hair follicle regression and chemotherapy-induced alopecia. *Am J Pathol* 156, 1395-1405.
121. Rong, S., Bodescot, M., Blair, D., Dunn, J., Nakamura, T., Mizuno, K., Park, M., Chan, A., Aaronson, S., and Vande Woude, G.F. (1992) Tumorigenicity of the met proto-oncogene and the gene for hepatocyte growth factor. *Mol Cell Biol* 12, 5152-5158.
122. Rong, S., Segal, S., Anver, M., Resau, J.H., and Vande Woude, G.F. (1994) Invasiveness and metastasis of NIH 3T3 cells induced by Met-hepatocyte growth factor/scatter factor autocrine stimulation. *Proc Natl Acad Sci* 91, 4731-4735.
123. Seol, D.W., Chen, Q., and Zarnegar, R. (2000) Transcriptional activation of the hepatocyte growth factor receptor (c-met) gene by its ligand (hepatocyte growth factor) is mediated through AP-1. *Oncogene* 19, 1132-1137.
124. Botchkareva, N.V., Botchkarev, V.A., Welker, P., Airaksinen, M., Roth, W., Suvanto, P., Müller-Röver, S., Hadshiew, I.M., Peters, C., and Paus, R.

- R. (2000) New roles for glial cell line-derived neurotrophic factor and neurturin: involvement in hair cycle control. *Am J Pathol* 156, 1041-1053.
125. Taipale, J. and Keski-Oja, J. (1996) Hepatocyte growth factor releases epithelial and endothelial cells from growth arrest induced by transforming growth factor-beta1. *J Biol Chem* 271, 4342-4348.
126. Foitzik, K., Lindner, G., Müller-Röver, S., Maurer, M., Botchkareva, N., Botchkarev, V., Handjiski, B., Metz, M., Hibino, T., Soma, T., (2000) Control of murine hair follicle regression (catagen) by TGF-beta1 in vivo. *FASEB J* 14, 752-760.
127. Ogo, M., Suzuki, J., Soma, T., Takahashi, T., Hibino, T., and Nakayama, Y. (1999) Identification of cyclosporin A responsive genes in human keratinocytes. *Exp Dermatol* 8, 357-358.
128. Amaike, H., Matsumoto, K., Oka, T., and Nakamura, T. (1996) Preventive effect of hepatocyte growth factor on acute side effects of cyclosporin A in mice. *Cytokine* 8, 387-394.
129. Osada, A. and Kobayashi, K. (2000) Appearance of hair follicle-inducible mesenchymal cells in the rat embryo. *Dev Growth Differ* 42, 19-27.
130. Naldini, L., Tamagnone, L., Vigna, E., Sachs, M., Hartmann, G., Birchmeier, W., Daikuhara, Y., Tsubouchi, H., Blasi, F., and Comoglio, P.M. (1992) Extracellular proteolytic cleavage by urokinase is required for activation of hepatocyte growth factor/scatter factor. *EMBO J* 11, 4825-4833.
131. Yu, D.W., Yang, T., Sonoda, T., Gaffney, K., Jensen, P.J., Dooley, T., Ledbetter, S., Freedberg, I.M., Lavker, R., and Sun, T.T. (1995) Message of nexin 1, a serine protease inhibitor, is accumulated in the follicular papilla during anagen of the hair cycle. *J Cell Sci* 108, 3867-3874.
132. Mecklenburg, L., Tobin, D.J., Müller-Röver, S., Handjiski, B., Wendt, G., Peters, E.M., Pohl, S., Moll, I., and Paus, R. (2000) Active hair growth (anagen) is associated with angiogenesis. *J Invest Dermatol* 114, 909-916.

133. Manganini, M. and Maier, J.A. (2000) Transforming growth factor beta2 inhibition of hepatocyte growth factor-induced endothelial proliferation and migration. *Oncogene* 19, 124-133.

## 9. Zusammenfassung

Der Haarfollikel ist mit seiner zyklischen Wachstumsaktivität ein besonders attraktives Modell für das Studium mesenchymal-epithelialer Interaktionen stark proliferierender Gewebe. Der Hepatozyten-Wachstumsfaktor (HGF/SF) ist ein mesenchymal sezerniertes Zytokin mit multifunktionellen Eigenschaften, das eine Schlüsselrolle in vielen solchen Interaktionssystemen spielt, möglicherweise auch im Haarfollikel. Die Bindung an den korrespondierenden Rezeptor (Met) epithelialer Zielzellen stimuliert u.a. deren Proliferation, Migration und Differenzierung und hemmt deren Apoptose. Die vorliegende Arbeit untersucht am Mausmodell anhand zueinander komplementärer phänomenologischer und funktioneller Experimente die Rolle von HGF/SF in der molekularen Kontrolle von Haarfollikelmorphogenese und Haarzyklus. Am C57BL/6-Mausmodell werden durch verschiedene molekularbiologische und histochemische Techniken (RT-PCR, *in situ*-Hybridisierung, Immunfluoreszenz) das exakte Expressionsmuster aller Stadien der Follikelentwicklung und des Zyklus von HGF/SF und Met ermittelt. Dabei tritt eine streng entwicklungsbiologisch und spatiotemporal kontrollierte Regulation zu Tage, wobei HGF/SF ausschließlich im Follikelmesenchym (dermale Papille) exprimiert wird, begleitet von einer Met-Expression im angrenzenden Haarfollikelepithel. Die Applikation von Haarwuchs-modulierenden Substanzen (Cyklosporin A, Cyclophosphamid) verändert die HGF/SF- und Met-Expression im proximalen Haarfollikel. HGF/SF- und Met- „knockout“-Mäuse zeigen eine veränderte Haarfollikelmorphologie und die Analyse von HGF/SF-überexprimierenden transgenen Mäusen ergibt eine vorzeitige und stark beschleunigte Haarfollikelmorphogenese sowie einen signifikant verzögerten Eintritt in die Apoptose-getriebene Follikelregression (Katagen), gefolgt von ausgeprägten Haut- und Haaranomalien im Verlauf einiger Wochen. Sowohl die intradermale *in vivo*- Applikation von rekombinantem HGF/SF als auch HGF/SF-Applikation in Hautorgankulturen bestätigen die ausgeprägte Fähigkeit von HGF/SF, Katagen zu inhibieren. Im Gegensatz dazu induziert die kutane Implantation von HGF/SF "slow- release beads" eine beschleunigte Anagenentwicklung. Die beschriebenen Ergebnisse lassen auf einen entscheidenden Einfluß des HGF/SF-Met-Signalsystems in der Haarwuchskontrolle der Maus schließen und suggerieren, daß synthetische Met-Agonisten und -Antagonisten klinischen Einsatz zur Behandlung von Haarwuchsstörungen (z.B. Haarausfall oder unerwünschten Haarwuchs) finden könnten.

## 10. Anhang

### 10.1 Lebenslauf

Name: Gerd Lindner  
E-mail: gerd.lindner@charite.de  
Geburtsort: Berlin  
Geburtsdatum: 26. Mai 1971  
Nationalität: deutsch  
Ausbildung:  
Grundschule: 1977-1983 Gustav-Dreyer-Grundschule, Berlin.  
Gymnasium: 1983-1990 Humboldt-Gymnasium, Berlin  
Universität: 1990-1996 Studium der Biochemie an der Freien Universität Berlin. Diplomarbeit: Nekrobiologie des Haarfollikels. Angefertigt im Biomedizinischen Forschungszentrum der Charité, Humboldt-Universität zu Berlin.  
24.03.1997 Verleihung des Diploms in Biochemie (Note: sehr gut).  
1997-2000 Promotion in Biochemie am Fachbereich Biologie Chemie Pharmazie der Freien Universität Berlin. Labor: Biomedizinischen Forschungszentrum der Charité, Humboldt-Universität zu Berlin, Augustenburger Platz 1, D-13353 Berlin.  
Stipendien: Doktorandenstipendium nach dem Nachwuchsförderungs Gesetz (NaFöG, Land Berlin, 1997)  
Doktorandenstipendium vergeben durch den Deutschen Akademischen Austauschdienst (DAAD, 1998)  
Reisestipendium der „Society for Investigative Dermatology, USA“ (1999)  
„Short term fellowship“ des Boehringer Ingelheim Fonds (1999)  
Internationale University of California, Irvine/USA

Kooperationen: Cambridge Medical School, Cambridge University, UK  
National Health Institute, Washington/USA

Patent: Gebrauchsmuster Nr. 299 03 171.3:  
Magerl, Paus, Ünalán, **Lindner**  
Einspannvorrichtung für Objektträger zum immunhisto-  
chemischen Anfärben von Gefrier- und Paraffinschnitten  
mittels Kapillarkraft

## 10.2 Publikationsliste

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden in Teilen publiziert:

**Lindner G**, Menrad A, Gherardi E, Merlino G, Welker P, Handjiski B, Roloff B and Paus P: Involvement of hepatocyte growth factor /scatter factor and Met receptor signaling in hair follicle morphogenesis and cycling, ***FASEB J*** 14:319-332, 2000. Internet: <http://www.faseb.org>

Weitere Publikationen:

Bulfone-Paus S, Ungureanu D, Pohl T, **Lindner G**, Paus R, Rückert R, Krause H, Kunzendorf U: Interleukin-15 protects from lethal apoptosis *in vivo*. ***Nature Medicine*** 3: 1124-1128, 1997

**Lindner G**, Botchkarev V, Botchkareva N, Ling G, Paus R: Analysis of apoptosis during hair follicle regression (catagen). ***Am J Path*** 151:1602-1671, 1997. Internet: <http://www.AMJPATHOL.ORG/cgi/content/abstract/151/6/1601>

**Lindner G**, Rückert R, Bulfone-Paus S, Paus R: Inhibition of chemotherapy-induced keratinocyte apoptosis *in vivo* by an Interleukin-15-IgG fusion protein. ***J Invest Dermatol*** 110: 457-458, 1997.

Botchkarev VA, Welker P, Albers KM, Botchkareva NV, Metz M, Lewin GR, Bulfone-Paus S, Peters EM, **Lindner G**, Paus R: A new role for neurotrophin-3: involvement in the regulation of hair follicle regression (catagen). ***Am J Path*** 153: 785-99, 1998.

Internet:<http://www.AMJPATHOL.ORG/cgi/content/full/153/3/785>

Botchkarev VA, Botchkareva N, Roth W, Chen LH, Nakamura M, Herzog W, **Lindner G**, McMahon JA, Peters C, Lauster R, McMahon AP and Paus R:



Noggin is a mesenchymally derived stimulator of hair-follicle induction. **Nature Cell Biol** 1: 158-164, 1999.

Internet:[http://cellbio.nature.com/future\\_issues/ncb0799cp\\_158.pdf](http://cellbio.nature.com/future_issues/ncb0799cp_158.pdf)

Müller-Röver S, Rossiter H, **Lindner G**, Peters EMJ, Kupper TS, Paus R: Hair follicle apoptosis and Bcl-2. **J Invest Dermatol Symp Proc** 4: 272-277, 1999.

Botchkareva N, Botchkarev VA, Chen LH, **Lindner G**, and Paus R: A role for p75 neurotrophin receptor in the control of hair follicle morphogenesis. **Dev Biol**, 216:135-153, 1999.

Foitzik K, **Lindner G**, Müller-Röver S, Maurer M, Botchkareva N, Botchkarev V, Handjiski B, Metz M, Hibino T, Soma T, Dotto GP, Paus R. Control of murine hair follicle regression (catagen) by TGF-beta1 *in vivo*. **FASEB J** 14: 752-760, 2000. Internet: <http://www.faseb.org>

Magerl M, Tobin D, Müller-Röver S, Hagen E, **Lindner G** and Paus. R: Patterns of proliferation and apoptosis during hair follicle morphogenesis. **J Invest Dermatol** 2000, in press

### 10.3 Danksagung

Diese Arbeit wurde von Prof. Dr. Paus initiiert, gefördert, und überwiegend in seinem Labor im Biomedizinischen Forschungszentrum der Charité (Campus Virchow-Klinikum) durchgeführt. Sein herausragendes wissenschaftliches und persönliches Engagement war ausschlaggebend für den Erfolg dieser Arbeit. Daher gilt ihm mein besonderer Dank.

Bei Prof. Dr. Hucho möchte ich mich herzlich für seine Bereitschaft bedanken, mich am Fachbereich Biologie, Pharmazie, Chemie der Freien Universität Berlin zu vertreten und diese Arbeit zu begutachten.

Prof. Dr. Gherardi danke ich besonders für die Bereitstellung von HGF/SF-Antikörpern, rekombinantem HGF/SF und Vektoren zur Herstellung von Proben für die *In situ*-Hybridisierung. Außerdem möchte ich ihm für die einzigartige Möglichkeit danken, daß ich einen Teil der Experimente der vorliegenden Arbeit an der Cambridge University Medical School im MRC Centre der Universität Cambridge, UK durchführen konnte. Die fachlichen Diskussionen waren immer sehr inspirierend.

Prof. Dr. Merlino ist ebenfalls maßgeblich an dem Erfolg dieser Arbeit beteiligt, da er mir seine HGF/SF-überexprimierenden, transgenen Mäuse für Untersuchungen zur Verfügung gestellt hat. Zusätzlich möchte ich mich aber besonders für den herzlichen Empfang in den USA und für die Möglichkeit bedanken, die exzellenten Arbeitsbedingungen in seinem Labor am National Cancer Institute des NIH, Washington, USA nutzen zu dürfen, um einige wichtige Studien für diese Dissertation durchzuführen.

Frau Prof. Dr. C. Birchmeier (MDC Berlin) möchte ich für die Möglichkeit danken, in ihrem Labor radioaktive *In situ*-Hybridisierung durchzuführen und Gewebeproben von HGF/SF- und Met-„knockout“-Mäusen zu analysieren. Aus

ihrer AG möchte ich besonders Martin Sieber und Eva Riethmeier für die erfolgreiche Zusammenarbeit danken.

Für die Bereitstellung von Stipendien und das Vertrauen, das nachstehende Institutionen zu mir hatten, möchte ich mich ganz besonders bedanken, da sie mir unabhängiges Arbeiten an dieser Doktorarbeit und die Teilnahme an internationalen Kooperationen und Kongressen ermöglichten:

-Stipendium nach dem Nachwuchsförderungsgesetz (NaFöG) des Landes Berlin, vergeben durch die Freie Universität Berlin.

-Doktorandenstipendium des Deutschen Akademischen Austauschdienstes (DAAD)

-Reisestipendium der „Society for Investigative Dermatology“

-„Short term fellowship“ des Boehringer Ingelheim Fonds

Bei Herrn Dr. Andreas Menrad (Schering AG, Experimentelle Onkologie) möchte ich mich für wesentliche Anregungen zum Thema HGF/SF und Haarwachstum herzlich bedanken.

Mein Dank gilt ebenso Dr. Petra Arck, die es mir ermöglichte, das von Prof. Dr. Paus übernommene Labor, weiterhin nutzen zu können, sowie ihrer gesamten Arbeitsgruppe, die mich immer unterstützt hat.

Weiterhin möchte ich allen Mitgliedern der AG Haarforschung der Charité für die Hilfsbereitschaft und das sehr angenehme Arbeitsklima danken. Insbesondere bei Ruth Pliet bedanke ich mich vor allem für die wertvolle Hilfe bei der tierexperimentellen Arbeit und für jegliche Hilfe im Labor. Dies gilt gleichermaßen für Evi Hagen, die mit „Rat und Tat“ immer zur Verfügung stand. Für die erfahrene Hilfe in den Laboren der Charité-Hautklinik am Standort Virchow-Klinikum danke ich Dr. Pia Welker, Sven und Dr. Andreas Grützkau.

Meinen Freunden, ganz besonders Tine, Susi und Ines, die mich unterstützt haben und mir gezeigt haben, daß es auch ein Leben außerhalb des Labors gibt, möchte ich ebenso danken.

Der innigste Dank aber gilt meinen Eltern für ihre finanzielle und ganz entscheidende psychische Unterstützung während der gesamten Zeit.

## 10.4 Abkürzungen

|           |   |
|-----------|---|
| AK        | Antikörper  |
| AMP       | Muskel arrektor pilli                                     |
| ÄWS       | Äußere Wurzelscheide                                      |
| B         | Isthmus-/Wulstregion                                      |
| BM        | Basalmembran  |
| BMP-2(-4) | bone morphogenic protein –2 (oder –4)                     |
| Bp        | Basenpaare  |
| cAMP      | zyklisches Adenosin 3',5'-Monophosphat                    |
| cDNA      | complementary DNA   |
| CsA       | Cyclosporin A   |
| CYP       | Cyclophosphamid   |
| COUP-TF   | chicken ovalbumin upstream promotor- transcription factor |
| DNA       | desoxyribonucleic acid                                    |
| DP        | dermale Papille   |
| EGF       | epidermal growth factor                                   |
| ES        | epithelialer Strang                                       |
| FGF       | fibroblast growth factor                                  |
| Gab-1     | Grb-2-assoziertes Bindungsprotein –1                      |
| Grb-2     | growth factor receptor-bound protein –2                   |
| GK        | Germkapsel (Germinativkapsel)                             |
| HF        | Haarfollikel  |
| HGF/SF    | hepatocyte growth factor/scatter factor                   |
| i.c.      | intracutaneously  |
| i.p.      | intraperitoneal   |
| IF        | Immunfluoreszenz  |
| IR        | Immunreaktivität/ immunreaktiv                            |
| IWS       | Innere Wurzelscheide                                      |
| kb        | kilo base pairs   |
| Met       | HGF/SF-Rezeptor   |
| p. d.     | post depilation   |

|                    |  |
|--------------------|--|
| p75 <sup>NTR</sup> | nerve growth factor receptor   |
| p85                | 85 kD-regulatorische Untereinheit der PI3K   |
| PBS                | phosphate- buffered saline   |
| PCR                | polymerase chain reaction  |
| PI3K               | Phosphatidylinositol -3OH-Kinase   |
| PLC- $\gamma$      | Phospholipase C- gamma   |
| RNA                | ribonucleic acid   |
| RT                 | Raumtemperatur   |
| RT-PCR             | reverse Transkriptase PCR  |
| SH2                | src -homologe Region-2   |
| Stat               | signal transducers and activators of transcription   |
| TBE                | Tris- Borat- EDTA(Ethylendiamintetraethyl-Essigsäure)- Puffer  |
| TBS                | Tris- buffered saline  |
| TdT                | terminale Desoxynukleotid-Transferase  |
| TGF- $\beta$       | transforming growth factor beta  |
| TNF $\alpha$       | tumor necrosis factor alpha  |
| TUNEL              | TdT- mediated dUTP-fluorescein nick end-labeling (terminale Desoxynukleotid- Transferase vermittelte dUTP- Fluorescein gekoppelte DNA- Fragment- Markierung) |
| ZNS                | Normalserum von Ziegen (nicht- immunisiert)  |

## 10.5 Erklärung

Diese Arbeit habe ich selbständig angefertigt und weder unerlaubte noch ungenannte Hilfsmittel verwendet. Diese Arbeit ist zu großen Teilen im FASEB Journal veröffentlicht (FASEB J 2000;14:319-332).