

## 4 Diskussion

Ursprüngliches Ziel der Untersuchungen war die Klärung der Frage, ob der Wilmstumor-Transkriptionsfaktor WT1 in der Pathophysiologie der Herzmuskelhypertrophie eine Rolle spielt. Diese Fragestellung gründete sich auf folgenden Überlegungen: Der kardiale Phänotyp von Mäusen mit inaktiviertem *Wt1*-Gen (*Wt1*<sup>-/-</sup>) dokumentiert, dass *Wt1* für das normale Herzmuskelwachstum während der Embryonalentwicklung notwendig ist (26, 28). Im Rahmen der kardialen Hypertrophie kommt es bekanntermaßen zur Reaktivierung von Genen, die bereits im fetalen Herzmuskel exprimiert werden. Beispiele hierfür sind atriales natriuretisches Peptid (ANP) und skeletales  $\alpha$ -Aktin im linken Ventrikel, sowie die sarkomeren Gene MHC und vMLC2 (42). Folglich scheinen das normale Herzmuskelwachstum während der Embryogenese und die Myokardhypertrophie im adulten Organismus durch ähnliche genetische Mechanismen gesteuert zu werden (42). Um Hinweise auf eine mögliche Assoziation von WT1 und Herzmuskelhypertrophie zu erhalten, wurde deshalb die kardiale WT1-Expression bei Ratten mit aus unterschiedlichen Ursachen kompensatorisch gesteigertem Myokardwachstum untersucht.

Entgegen der ursprünglichen Arbeitshypothese konnte eine verstärkte Expression von WT1 im hypertrophierten Myokard weder bei spontan hypertensiven Ratten noch bei Ratten mit transgener kardialer Überexpression von Renin und Angiotensinogen nachgewiesen werden. Eine direkte Rolle von WT1 in der Entwicklung einer Herzmuskelhypertrophie erscheint deshalb eher unwahrscheinlich. Interessanterweise zeigte sich im RNase Protectionassay nach Ligatur der linken Koronararterie eine gesteigerte WT1-Expression, die ausschließlich im infarzierten linken Ventrikel, nicht jedoch im intakten rechtsventrikulären Myokard nachweisbar war.

Aus diesem neuen und zugleich unerwarteten Befund ergaben sich folgende weiterführende Fragestellungen: Von welchen Zellen im post-ischämischen Myokard wird WT1 exprimiert? Durch welche Mechanismen wird die WT1-Expression induziert? Welche funktionelle Bedeutung hat die gesteigerte Expression von WT1 nach einem Myokardinfarkt? Die im Folgenden diskutierten Untersuchungsergebnisse sollen erste Antworten auf diese Fragen geben.

#### 4.1. WT1-Expression nach Myokardinfarkt

Mittels eines RNase-Protectionassays konnte nachgewiesen werden, dass bereits innerhalb von 24 h nach Ligatur der linken Koronararterie eine signifikante Zunahme der Wt1-Expression im infarktnahen linksventrikulären Myokard erfolgte. Der schnelle Anstieg von Wt1 deutet darauf hin, dass offenbar sehr frühzeitig nach Infarkt Aktivierungsmechanismen für die Wt1-Expression wirksam werden. Als auslösendes Signal kommt z.B. eine regionale Gewebehypoxie als unmittelbare Folge der Ischämie in Betracht. Die Persistenz der Wt1-Expressionssteigerung, die auch noch 9 Wochen nach Infarkt nachweisbar war, weist darauf hin, dass neben einer Gewebehypoxie langfristig vermutlich noch weitere Stimuli relevant sind. Die Identität dieser Signale, die möglicherweise im Zusammenhang mit dem kardialen Remodelling nach Myokardinfarkt gebildet werden, bleibt derzeit unbekannt und bedarf weiterer Untersuchungen.

In Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen (24, 25, 28) war die Wt1-Expression in scheinoperierten Kontrolltieren auf das Epikard beschränkt. Wt1 konnte weder in den Kardiomyozyten noch in anderen Herzmuskelzellen, insbesondere nicht in den Blutgefäßen des Herzmuskels, nachgewiesen werden. Interessanterweise kam es nach Infarkt zu einer Wt1-Expression in den infarktnahen Gefäßen. Der immunhistochemische Nachweis von Wt1 Protein wird durch *in situ* Hybridisierungen unterstützt, in denen eine vaskuläre *de novo* Expression von Wt1 im Infarkttrandbereich erkennbar ist.

Um die Wt1 exprimierenden Gefäßzellen im postischämischen Myokard zu typisieren, wurden Immundoppelfärbungen für Wt1 und verschiedene zelluläre Marker durchgeführt. Die Untersuchungen ergaben eine überlappende Verteilung von Wt1,  $\alpha$ -Aktin glatter Muskelzellen und endotheliale PECAM-1 in den Koronargefäßen des ischämischen Myokards. Folglich scheinen sowohl glatte Gefäßmuskelzellen als auch vaskuläre Endothelzellen im post-ischämischen adulten Herzen Wt1 zu exprimieren. Um die *de novo* Expression von Wt1 nach Myokardinfarkt funktionell einordnen zu können, ist es hilfreich, sich zunächst die Wt1-Expression während der Herzmuskelentwicklung zu vergegenwärtigen.

#### 4.2. Wt1-Expression während der embryonalen Herzmuskelentwicklung

Während der Herzentwicklung ist *Wt1* bei der Maus erstmalig am 9. Entwicklungstag (E9) im proepikardialen Organ nachweisbar (28). Das proepikardiale Organ ist ein extrakardiales Gewebe, aus dem im weiteren Entwicklungsverlauf das Epikard, der epitheliale „Mantel“ des Herzmuskels, entsteht (60). Das Epikard gilt als Quelle für die verschiedenen zellulären Komponenten der Myokardgefäße (60, 61). Während der Koronarvaskulogenese bei der Maus lösen sich ab dem Entwicklungstag E11.5 einzelne Zellen aus dem epikardialen Verband und wandern in das subepikardiale Gewebe ein, wo sie eine Zone subepikardialer mesenchymaler Zellen (SEMCs) bilden (37-39). Dieser Vorgang erfordert die Umwandlung von epikardialen (epithelialen) in mesenchymale Zellen. Untersuchungen an transgenen Mauslinien, die das LacZ-Reportergen unter der Kontrolle des *WT1*-Genlocus exprimieren, bestätigen, dass es sich bei den SEMCs um Zellen epikardialen Ursprungs handelt (28). Auch an Vogelembryonen konnte gezeigt werden, dass *WT1* eng mit der Ausbildung des Epikards und subepikardialen Mesenchyms assoziiert ist (33, 40). Es wird angenommen, dass *WT1* für die Transformation von Epikard in mesenchymale Zellen eine wichtige Rolle spielt (28). Die Vorstellung, dass *WT1* für den reziproken Übergang zwischen einem epithelialen und einem mesenchymalen Zustand verantwortlich ist, stützt sich auf den charakteristischen Phänotyp von Mäusen mit inaktiviertem *Wt1*-Gen (26). Neben anderen Organentwicklungsstörungen zeigen *Wt1*-defiziente Embryonen eine unvollständige Ausbildung des Epikards (26, 28) und eine deutliche Verminderung der Zahl subepikardialer Mesenchymzellen (28). *WT1*-positive Zellen migrieren normalerweise zum Zeitpunkt E12.5 vor allem im Bereich des kaudalen Sulcus interventricularis aus dem subepikardialen Mesenchym in das Myokardgewebe. Dort differenzieren sie zu glatten Gefäßmuskelzellen (VSMCs), perivaskulären und intramyokardialen Fibroblasten, sowie wahrscheinlich auch zu Gefäßendothelzellen (37-39). Die Expression von *WT1* wird offenbar nach Differenzierung der Gefäßzellen beendet (28). Diese Entwicklungsprozesse zeigen, dass die Expression von *WT1* eng mit der Ausbildung der Herzmuskelgefäße assoziiert ist. Tatsächlich konnte kürzlich nachgewiesen werden, dass Mausembryonen mit *Wt1*-Gendefekt eine Störung der Koronarvaskulogenese aufweisen (62).

Es erscheint deshalb plausibel, dass die vaskuläre *de novo* Expression von *Wt1* nach Myokardinfarkt bei der Ratte Teil eines vaskulogenen genetischen Programms sein

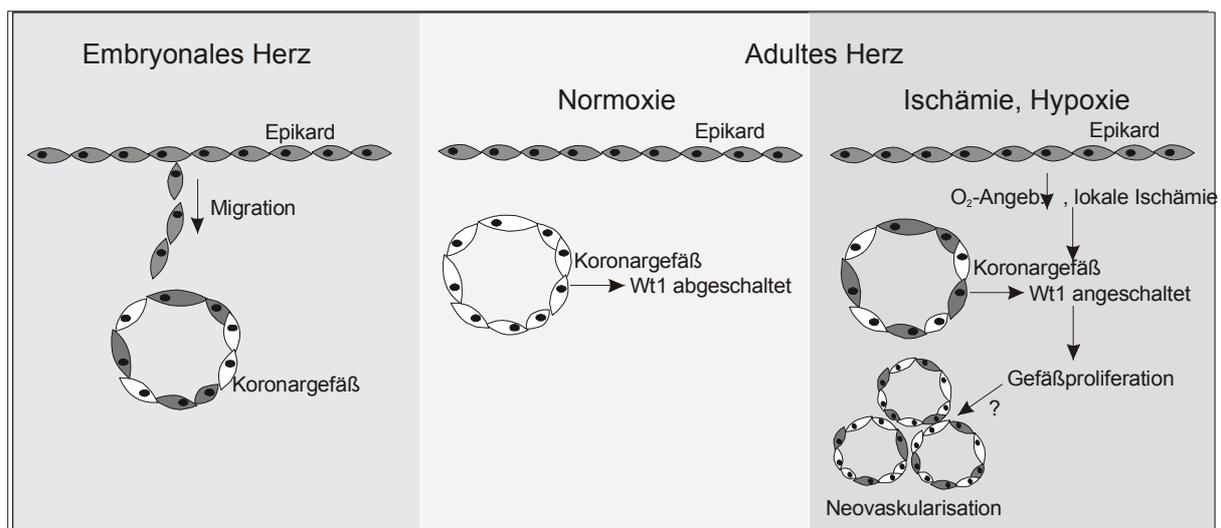
könnte. Die Proliferation von glatten Gefäßmuskel- und Endothelzellen ist ein kritischer Schritt für die Ausbildung neuer aus bereits existierenden Blutgefäßen. Die überlappende Expression von WT1 und PCNA, einem Markerprotein für proliferierende Zellen, sowie PECAM-1 deuten auf eine Rolle von WT1 in der proliferativen Gefäßantwort nach regionaler Gewebsischämie hin. Diese Annahme wird durch die Beobachtung gestützt, dass VEGF, ein wichtiger Wachstumsfaktor für das Gefäßendothel (63, 64), in WT1-positiven Gefäßen im Infarkttrandbereich vorkommt. Diese Befunde können als Hinweis darauf gewertet werden, dass WT1 nicht nur für das Gefäßwachstum im embryonalen Herzmuskel notwendig ist (62), sondern auch bei der Vaskularisation des Myokards nach Infarkt eine Rolle spielt. Offenbar behalten die ontogenetisch vom Epikard abstammenden Koronargefäßzellen ihr Potenzial zur WT1-Expression bei. Die genaue Funktion von vaskulär exprimiertem WT1 nach Myokardinfarkt ist noch zu bestimmen. In Analogie zu der postulierten Rolle während der Embryogenese lässt sich spekulieren, dass WT1 den Gefäßzellen im post-ischämischen Myokard ermöglicht, einen mesenchymalen Zustand anzunehmen. Die mesenchymale Transformation könnte mit einer Zunahme des zellulären Proliferationspotenzials verbunden sein und eine Voraussetzung für das Gefäßwachstum darstellen.

Die molekularen Zielgene, die durch WT1 in Myokardgefäßen kontrolliert werden, sind noch unbekannt. Während der embryonalen Herzmuskelentwicklung scheint WT1 durch Expressionsaktivierung des TrkB-Neurotrophinrezeptors in den subepikardialen Gefäßen eine anti-apoptotische Wirkung auszuüben und dadurch die Gefäßbildung zu fördern (62). Es bleibt abzuklären, ob dieser Mechanismus auch für die vaskulären WT1-Effekte im adulten Herzen funktionell bedeutsam ist. Ein erster Hinweis darauf könnte sein, dass TrkB, ähnlich wie WT1, in den Gefäßen des post-ischämischen Myokards vermehrt exprimiert wird (Wagner et al., unveröffentlichte Beobachtung).

#### 4.3. Stimulation der WT1-Expression durch Hypoxie

Die umschriebene vaskuläre WT1-Expression nach myokardialer Gewebsischämie wirft die Frage nach den auslösenden Signalmechanismen auf. Da Gewebshypoxie die unmittelbare Folge einer regionalen Minderperfusion ist, wurde untersucht, ob WT1 nach systemischer Hypoxie von Ratten vermehrt exprimiert ist. Sowohl unter normobarer Hypoxie (8% inspiratorische O<sub>2</sub>-Konzentration) als auch nach

Kohlenmonoxidexposition (0,1% CO) zur Simulation einer funktionellen Anämie war WT1 - ähnlich wie im post-ischämischen Herzmuskel - in den Myokardgefäßen nachweisbar. In den Herzen normoxischer Versuchstiere (20% O<sub>2</sub>) kam WT1 dagegen ausschließlich epikardial vor. Eine unter Hypoxie gesteigerte WT1-Expression wurde auch in den Nieren, nicht jedoch in anderen Organen wie Milz und Gehirn der Versuchstiere festgestellt. Messungen des lokalen Gewebesauerstoffpartialdruckes wurden im Rahmen der Untersuchungen nicht vorgenommen. Es konnte deshalb nicht geklärt werden, ob der ausbleibende Anstieg der WT1-Expression in Milz und Gehirn auf eine unzureichende Hypoxie in diesen Organen zurückzuführen war, oder ob die sauerstoffabhängige Regulation von WT1 gewebespezifisch erfolgte. Trotz dieser Einschränkungen zeigen die Ergebnisse erstmalig, dass die Expression von WT1 - zumindest in Herz und Nieren - durch Sauerstoff reguliert wird. Die Kolo-kalisation mit hypoxieinduzierbarem Faktor-1 (HIF-1), dem wichtigsten molekularen Vermittler einer sauerstoffabhängigen Genexpression (44), deutet auf einen regulatorischen Zusammenhang hin. Interessanterweise sind im proximalen Promotor des Wt1-Gens mindestens zwei Konsensusmotive (5'-RCGTG-3') für die Bindung von HIF-1 enthalten. Die Vermutung war deshalb nahe liegend, dass die Stimulation der WT1-Expression unter Hypoxie durch HIF-1 vermittelt sein könnte.



**Abb. 15: Epikardialer Ursprung und hypoxieabhängige Wt1-Expression myokardialer Gefäßendothelzellen.**

Während der Embryogenese kommt es zur provaskulogenen Migration Wt1-positiver Epikardialzellen in das Myokardgewebe. Unter normoxischen Bedingungen ist Wt1 im adulten Herzen normalerweise ausschließlich epikardial exprimiert, während es unter hypoxisch-ischämischen Bedingungen im Gefäßendothel re-exprimiert wird.

#### 4.4. Hypoxieaktivierte Genexpression und hypoxieinduzierbarer Transkriptionsfaktor HIF-1

Alle höheren Organismen haben hochkomplexe Organsysteme für Aufnahme, Transport und Gewebeverteilung von Sauerstoff. Dabei ist der lokale Sauerstoffpartialdruck eine wichtige Einflussgröße für die O<sub>2</sub>-Homöostase. Die lokale Sauerstoffregulation ist vorteilhaft, da sie Geweben ein hohes Maß an Plastizität, z.B. bei Wundheilung und Funktion in großer Höhe, erlaubt. Nachteilig wird sie in soliden Tumoren, die sich dadurch der extrinsischen Kontrolle durch den Organismus entziehen und in ihrem autonomen Wachstum unter Umständen beschleunigt werden.

Hypoxieinduzierbare Faktoren (HIFs) sind die wichtigsten Transkriptionsfaktoren für die sauerstoffabhängige Genregulation (44, 65). Als erstes Molekül wurde HIF-1 aufgrund der Transaktivierung eines hypoxieresponsiven Elements (HRE) im 3'-Enhancer des Erythropoietin-Gens identifiziert (66). HIF1-Aktivität wurde später auch in verschiedenen, nicht-Erythropoietin-produzierenden Zellen unter hypoxischen Kulturbedingungen gefunden (67). Somit handelt es sich bei den HIFs, von denen inzwischen drei Familienmitglieder identifiziert wurden (HIF-1, -2 und -3), offenbar um die Komponenten eines ubiquitären Sauerstoffsensing- und Signaltransduktionsmechanismus.

HIFs sind Heterodimere, bestehend aus 3 unterschiedlichen, sauerstofflabilen  $\alpha$ -Untereinheiten mit jeweils identischer und konstitutiv exprimierter  $\beta$ -Untereinheit. Bei beiden ( $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -) Monomeren handelt es sich strukturell um Helix-Loop-Helix PAS-Proteine, wobei die  $\beta$ -Untereinheit mit dem Bindungspartner des Dioxin Arylhydrocarbonrezeptors ARNT identisch ist (65). Die Degradierung der  $\alpha$ -Untereinheit in Anwesenheit von Sauerstoff erfolgt über einen Ubiquitin-Proteasomen-Abbauweg (58, 59, 65). Dieser Vorgang wird durch Hydroxylierung zweier Prolinreste in der sauerstoffabhängigen Abbaudomäne (ODD, oxygen-dependent degradation domain) der  $\alpha$ -Untereinheit reguliert (58, 59). Da die biologische Aktivität der Prolylhydroxylasen neben Sauerstoff u.a. auch 2-Oxoglutarat und Eisen als Co-Faktoren benötigt, können hypoxische Zustände durch Ferrochelatoren wie Desferrioxamin und Cobalt-Ionen simuliert werden (68). Durch HIF regulierte Zielgene spielen u.a. im Eisenstoffwechsel (z.B. Transferrin), im Metabolismus (z.B. Carboanhydrase) und in der Gefäßbildung (z.B. VEGF) eine Rolle (65). Interessanterweise ist die Expression von HIF-1 in verschiedenen

Tumoren, u.a. in Nephroblastomen (69), im Vergleich zu gesundem Gewebe erhöht. Es wird daher angenommen, dass HIF-1 in diesen Malignomen Angiogenesemechanismen aktiviert und dadurch deren Wachstum fördern kann (70).

#### 4.5. HIF-1 als Mediator der sauerstoffabhängigen WT1-Expression

Die Analyse des molekularen Mechanismus, welcher der sauerstoffabhängigen WT1-Expression zugrunde liegt, erfordert ein geeignetes Zellkulturmodell. Ein solches stand bislang nicht zur Verfügung. Durch systematisches Screening zahlreicher Zelllinien gelang der Nachweis einer hypoxieinduzierbaren WT1-Expression in humanen Osteosarkomzellen (U2OS) und in einer Lymphoblastenzellen (Reh). WT1 wird normalerweise in CD34<sup>+</sup> hämatopoietischen Vorläuferzellen exprimiert. Auch in primären Leukämiezellen kommt WT1 vor, wo es als Marker für den Schweregrad der Erkrankung gilt (48, 71). Die Expression von WT1 in Reh-Zellen lässt sich somit mit der Abstammung der Zelllinie begründen.

Die folgenden Befunde zeigen, dass der *WT1*-Promotor durch Hypoxie aktivierbar ist und HIF-1 eine Vermittlerrolle spielt:

1. Der Promotor des *WT1*-Gens wird durch Hypoxie und „Hypoxiemimetika“ (CoCl<sub>2</sub>, DFX) stimuliert.
2. Co-Transfektion eines HIF-1 Expressionskonstrukts aktiviert den *WT1*-Promotor bei Normoxie.
3. Die Deletion eines hypoxieresponsiven Elements (HRE) im proximalen *WT1*-Promotor bewirkt einen Verlust der Induzierbarkeit durch HIF-1 bzw. CoCl<sub>2</sub>.
4. Das identifizierte HRE im proximalen *WT1*-Promotor bindet Kernextrakte aus hypoxischen Zellen, wobei das Bindungsprotein aufgrund von Supershift-Experimenten als HIF-1 identifiziert werden konnte.

Trotz dieser scheinbar eindeutigen Befunde sind die aus Co-Transfektionsexperimenten erzielten Resultate mit Vorsicht zu interpretieren. So konnte erst kürzlich gezeigt werden, dass Knockdown von HIF-2 $\alpha$ , nicht jedoch von HIF-1 $\alpha$ , die Aktivierung des Erythropoietin 3'-Enhancers durch Hypoxie verhinderte (72). Diese Beobachtung war insofern überraschend, als das Erythropoietingen aufgrund von Reporterassay-Experimenten bislang als ein klassisches HIF-1 $\alpha$  Zielgen galt (68, 73). Offenbar verursacht Überexpression von HIF-1 $\alpha$  in Co-Transfektionsversuchen biologische Wirkungen, die normalerweise durch HIF-2 $\alpha$

ausgeübt werden. Diese neuen Erkenntnisse waren zum Zeitpunkt der eigenen Untersuchungen noch nicht bekannt und konnten deshalb bei der Planung der Experimente nicht berücksichtigt werden. In weiterführenden Arbeiten sollte deshalb überprüft werden, ob der Hypoxieeffekt am *WT1*-Promotor möglicherweise eher durch HIF-2 $\alpha$  als durch HIF-1 $\alpha$  vermittelt ist. Dies könnte anhand von Promotor-Reporterassays durch selektiven Knockdown der beiden HIF-Varianten (HIF-1 $\alpha$  und HIF-2 $\alpha$ ) mit der siRNA Technik geschehen (72). Trotz der noch ungeklärten Rolle von HIF-2 $\alpha$  zeigen die Ergebnisse, dass hypoxieinduzierbare Faktoren für die Aktivierung des *WT1*-Promotors eine wichtige Rolle spielen. Während HIFs in praktisch allen Zelllinien durch einen niedrigen Sauerstoffpartialdruck stabilisiert werden, konnte eine unter Hypoxie gesteigerte *WT1*-Expression allerdings nur in zwei der untersuchten Linien festgestellt werden. Demnach scheinen neben HIF noch weitere, bislang unbekannte Faktoren für eine sauerstoffabhängige *WT1*-Regulation notwendig zu sein.

#### 4.6. (Patho)physiologische Konsequenzen einer sauerstoffabhängigen *WT1* - Regulation

Die Aktivierung der *WT1*-Expression unter Hypoxie könnte sowohl während der normalen Embryonalentwicklung als auch für die Tumorgenese bedeutsam sein. Im fetalen Organismus wird *WT1* vor allem im Urogenitalsystem, in mesothelialen Geweben sowie an umschriebenen Stellen im ZNS exprimiert (22-25, 30-32). Der charakteristische Phänotyp von Knockoutembryonen zeigt, dass *WT1* für eine normale Organentwicklung notwendig ist (26-28, 30-32, 62). Da der Sauerstoffpartialdruck in fetalen Geweben deutlich niedriger als im adulten Organismus ist, könnte Hypoxie ein wichtiger physiologischer Stimulus für die *WT1*-Expression während der Embryogenese sein. Die Bedeutung sauerstoffregulierter Prozesse für die Embryonalentwicklung zeigt sich an Mäusen mit inaktiviertem HIF-1 $\alpha$ -Gen. Mausembryonen mit homozygotem HIF-1 $\alpha$  Defekt (*HIF-1 $\alpha$ <sup>-/-</sup>*) sind am 11. Gestationstag letal und weisen Entwicklungsstörungen u.a. des Neuralrohres, der Blutgefäße, des Herzmuskels und des Mesenchyms im Kopfbereich auf (74). Die hier dargestellten Untersuchungsergebnisse legen die Vermutung nahe, dass *WT1* ein neues HIF-1 Zielgen während der Embryogenese sein könnte.

Interessanterweise ist die Expression von WT1 auch im adulten Organismus durch Hypoxie induzierbar. Sauerstoffmangel verursacht eine *de novo* Expression von WT1 im Endothel und den glatten Muskelzellen der Myokardgefäße sowie in den proximalen Tubuluszellen der Nieren (57). Diesen unterschiedlichen Zelltypen ist gemeinsam, dass sie von WT1-positiven Progenitorzellen aus dem Epikard bzw. der Nierenanlage abstammen. Offenbar behalten die Zellen nach Abschluss der Differenzierung ihr Potenzial zur WT1-Expression bei und werden durch Hypoxie stimuliert.

Die hypoxievermittelte WT1-Expression könnte auch in der Tumorphathogenese eine Rolle spielen. Wilmstumoren (Nephroblastome) gelten als das Resultat einer fehlgeleiteten Nierenentwicklung. Sie entstehen vermutlich aus persistierenden Foci embryonalen Nierengewebes, deren Differenzierung in reife Tubuli und Glomeruli ausbleibt (1). Während Mutationen im *WT1*-Suppressorgen für ca. 15% der sporadischen Wilmstumoren verantwortlich sind, wird WT1 in einem signifikanten Prozentsatz der Malignome vermehrt exprimiert (75, 76). Die hier dargestellten Ergebnisse lassen die Interpretation zu, dass lokale Gewebshypoxie über HIF-1 die WT1-Expression in Wilmstumoren aktiviert. Übereinstimmend wurde in einer aktuellen Arbeit die Koexpression von HIF-1 $\alpha$  und vaskulärem endotheliale Wachstumfaktor VEGF in Wilmstumoren unabhängig von deren histologischem Subtyp gezeigt (69). HIF-1 $\alpha$  und VEGF sind auch in nephrogenen Resten nachweisbar und weisen somit auf eine Bedeutung hypoxieabhängiger Signaltransduktionsmechanismen zu einem frühen Zeitpunkt der Tumorgenese hin (69).

#### 4.7. Ausblick

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die Expression des Wilmstumor - Transkriptionsfaktors WT1 durch regionale Gewebeischämie und Hypoxie in Myokardgefäßen stimuliert wird. Die Hypoxiewirkung ist zumindest partiell durch den hypoxieinduzierbaren Faktor-1 (HIF-1) vermittelt, der den Promotor des WT1 Gens direkt aktiviert. Zwischenzeitlich publizierte Untersuchungen haben ergeben, dass WT1 für die normale Vaskulogenese im embryonalen Herzmuskel notwendig ist (62). Es erscheint deshalb wahrscheinlich, dass WT1 auch im adulten Herzen nach regionaler Gewebeischämie Gene aktiviert, die das Gefäßwachstum fördern. Zukünftige Untersuchungen sollten darauf ausgerichtet sein, die Rolle von WT1 für

die Gefäßbildung im adulten Myokard näher zu analysieren. Dazu ist es notwendig, physiologisch relevante Zielgene von WT1 zu identifizieren. Weiterhin ist nachzuweisen, dass WT1 eine direkte vaskulogene Wirkung hat bzw. für die Neovaskularisation im adulten Herzmuskel tatsächlich notwendig ist. Schließlich gilt es, die physiologischen Signalwege und deren molekularen Mediatoren zu entschlüsseln, welche die Expression von WT1 in Gefäßzellen steuern. Diese Ziele erfordern die kombinierte Anwendung zell- und molekularbiologischer Methoden, sowie den Einsatz transgener Tiermodelle. Wichtige neue Erkenntnisse werden zukünftig möglicherweise auch von Mäusen mit konditionell inaktivierten Wt1 Gen zu erwarten sein. Ein langfristiges perspektivisches Ziel der vorgelegten Untersuchungsergebnisse besteht in ihrer Nutzbarmachung für neue therapeutische Ansätze in der Behandlung der ischämischen Herzerkrankung. Dazu sind allerdings zunächst noch weitere experimentelle Arbeiten erforderlich, um die molekularen Mechanismen der Gefäßbildung im Detail zu analysieren.