



Universiteit  
Leiden

The Netherlands

## Forces and symmetries in cells and tissues

Eckert, J.

### Citation

Eckert, J. (2022, December 6). *Forces and symmetries in cells and tissues*. *Casimir PhD Series*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3492626>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3492626>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

---

# Zusammenfassung

---

Was haben Wale, Schnecken, Menschen, Pflanzen und alle anderen Lebewesen gemeinsam? Wir alle bestehen aus den gleichen Bausteinen, den Zellen. Billionen von Zellen, die gerade einmal eine Größe von wenigen Mikrometern haben, bilden ein Netzwerk und formen zum Beispiel die Organe unseres menschlichen Körpers und deren umgebende Struktur. Zellen haben ihren eigenen Lebenszyklus, kommunizieren und koordinieren sich miteinander, was am Ende unsere Individualität als Mensch ausmacht. Allein die Tatsache, dass du dieses Buch geöffnet und hoffentlich Spaß beim Lesen hattest, verdankst du deinem Netzwerk von Zellen.

Was ist das Geheimnis von diesem Netzwerk, das unser Leben durch diese kleinen Zellen ermöglicht? Im Grunde genommen ist das Zellnetzwerk nicht so sehr verschieden von den Strukturen unserer Gesellschaft. Wir tendieren immer noch dazu, Menschen nach ihrem Geschlecht, Herkunft und kulturellem Hintergrund einzuordnen, auch wenn wir im Grunde alle gleich sind. Zellen werden zum Beispiel nach ihrer molekularen Struktur oder ihren Eigenschaften klassifiziert, wie in Stammzellen, Hautzellen, Muskelzellen und Lungenzellen. Wir Menschen sind täglich in Kontakt miteinander, sei es in der Schlange an der Kasse im Supermarkt, beim Einstieg in eine überfüllte U-Bahn, bei der Überquerung einer Brücke oder im Fußballstadium. Dennoch sind wir auch unabhängig und können alleine unsere Privatsphäre genießen. Das Gleiche trifft auch bei Zellen zu. Sie bilden Strukturen und formen Gewebe wie Blutgefäße und Organe, treten mit ihrer nichtzellularen Umgebung in Kontakt und bewegen sich einzeln oder als Verband wie es zum Beispiel bei Metastasen der Fall ist. Wir sehen also, dass die Wahrnehmung der Umgebung, die Kommunikation, Koordination und die Gemeinschaft eine große Rolle in verschiedenen Größenordnungen spielen. Meine Doktorarbeit spiegelt solche Themen wider und umfasst die Bereiche der Zellbiologie, der biologischen Physik und weichen Materie. Sie kombiniert dabei experimentelle Beobachtungen mit theoretischen Beschreibungen.

Die Entstehung und die Rolle der Interaktionen zwischen Zellen wurde in den letzten Jahrzehnten breit diskutiert und ist noch immer in ver-

schiedenen Bereichen ein aktueller Forschungsgegenstand der heutigen Wissenschaft. Während Physikerinnen und Physiker die Zell-Zell-Adhäsion durch Spannungen, Kräfte, Drücke und ausgeübten Stress an deren Grenzflächen beschreiben, studieren Biologen und Biologinnen ihre molekulare Beschaffenheit und die Mechanismen, die in den Zellen stattfinden. Einige Moleküle, die sich in der Membran befinden, verbinden Zellen miteinander oder Zellen mit deren nichtzellulären Umgebung, während andere Moleküle das Zellskelett bilden und wiederum andere alle internen Komponenten verknüpfen. In **Kapitel 1** haben wir uns diesem Thema gewidmet und eine Definition der Zell-Zell-Adhäsion auf der Basis biologischer und physikalischer Erkenntnisse zusammengetragen. Wenn Zellen in Kontakt miteinander sind, erfahren sie Drücke und Spannungen von ihren Nachbarn, wie es Menschen erleben, wenn sie gequetscht in einer U-Bahn stehen und bei jeder Kurve aneinander stoßen. Zellen sind in der Lage, auf die Wechselwirkungen mit ihrer Umgebung und anderen Zellen zu reagieren. Jede Wechselwirkung ruft einen internen Prozess hervor. Dabei setzen sich Moleküle in Bewegung und gelangen an die Zell-Membran, wo sie gebraucht werden, um deren Stabilität zu unterstützen oder sie verändern das Zellskelett und damit die Form der Zelle. Somit erzeugt jede erfahrene Reaktion eine Gegenreaktion. Die erzeugten Veränderungen der Zell-Zell-Adhäsion gehen somit mit Änderungen von der Zellform, Koordination und dem kollektiven Verhalten von Zellen einher.

In **Kapitel 2** haben wir die Wechselwirkungen von einzelnen Zellen mit ihrer nichtzellulären Umgebung untersucht. Dabei unterscheidet sich die interne Struktur einzelner Zellen von der von verbundenen Zellen. Einzelne Zellen haften sich nur mit der Hilfe von Adhäsionsmolekülen an das Substrat. Die Adhäsionsmoleküle wiederum verbinden sich mit dem Zellskelett, welches die Zellform unterstützt. Dieses Zellskelett ist in der Lage, sich zusammenzuziehen, wodurch eine Zugkraft auf das Substrat wirkt, was wiederum der Zelle erlaubt, sich zu bewegen. Dieser Mechanismus ähnelt dem der Schnecke, wenn ihre Muskeln sich kontrahieren, um vorwärts zu gelangen. Die Kontraktion und die damit aufgebrachte Zugkraft ist eine Eigenschaft von Zellen. So erzeugen beispielsweise Muskelzellen hohe Kontraktionskräfte, um Blut durch die Venen zu pumpen. In unserem Experiment haben wir zwei verschiedene Zelltypen anhand ihrer Zugkräfte verglichen und untersucht, wie ihre Form damit zusammenhängt. Um die Zugkräfte von Zellen zu messen, verwendeten wir ein spezielles Werkzeug, ein so genanntes Mikrosäulen-Array. Mikrosäulen-Arrays bestehen aus Hunderten von winzigen elastischen Balken, die viel kleiner sind als die Zelle. Wenn eine Zelle sich auf einem Bett aus Mikrosäulen haftet und

beginnt, an diesem Balken Zugkräfte auszuüben, biegen sich diese. Diese Biegung kann mit Hilfe von Mikroskopen gemessen und durch Programme in eine Kraft umgerechnet werden. In unserem Experiment verwendeten wir Endothel- und Fibroblastenzellen. Endothelzellen bilden eng verbundene zweidimensionale Gewebe, die Blutgefäße umgeben. Fibroblasten hingegen sind beweglich, erhalten die Integrität von Geweben aufrecht und sind somit an der Gewebereparatur beteiligt. Wir haben gezeigt, dass Endothelzellen im Vergleich zu Fibroblasten nur halb so viel Zugkraft auf ihre Umgebung ausüben. Dieses Ergebnis spiegelt die Eigenschaften der einzelnen Zelltypen wider. Da die Zell-Zell-Adhäsion in Endothelzellen zur Gewebebildung ausgeprägter ist, zieht sich das Zellskelett an der Zell-Zell-Verbindungsfläche stärker zusammen als an der Zell-Substrat-Fläche. Fibroblasten hingegen benötigen stärkere Zell-Substrat-Wechselwirkungen, um das Bindegewebe aufzubauen und geschädigtes abzubauen. Wir haben weiterhin gezeigt, dass sich die Zugkräfte von Endothelzellen mehr verteilen und durch ihre rundliche Form gleichmäßiger verteilt sind, während Fibroblasten lang gestreckt und die Zugkräfte dadurch lokalisierter sind. Wir vermuten, dass die Korrelation zwischen der Verteilung der ausgeübten Zugkräfte mit der Zellform dazu dient, die Richtung der Bewegungen und das kollektive Verhalten von Zellen im Gewebe zu steuern.

In dynamischen Prozessen wie der kollektiven Zellbewegung kommt es sehr schnell zu Spannungsänderungen an der Zell-Zell-Kontaktfläche. Neue Zell-Zell-Adhäsionen müssen gebildet werden, um Trennungen von Zellverbänden zu vermeiden und die Integrität des Gewebes aufrechtzuerhalten. Dadurch ergeben sich folgende Fragen: Was ist die maximale Kraft, die aufgebracht werden kann, um die Zell-Zell-Adhäsion zu brechen, und kann diese gemessen werden? Zur Beantwortung dieser Fragen haben wir die Mikrosäulen-Array-Technologie weiterentwickelt, um die beteiligten Kräfte an der Trennung von Zellen genauer zu messen. In **Kapitel 3** haben wir unsere neue Technologie, das Zell-Zell-Trennverfahren oder im Englischen das Cell-Cell Separation Device (CC-SD), vorgestellt. Das CC-SD besteht aus eng benachbarten Blöcken, auf denen sich die Mikrosäulen befinden. Es erlaubt den Zellen sich an die Spitzen der Säulen zu heften und sich über die Lücke zwischen den Blöcken miteinander zu verbinden. Idealerweise handelt es sich dabei um zwei Zellen. Die Biegung der Mikrosäulen gibt auch hier wieder Aufschluss über die aufgewendeten Zugkräfte. Die Kräfte befinden sich dabei in einem mechanischen Gleichgewicht und addieren sich zu null. Wenn du die Hände einer anderen Person ergreifst, spürst du dabei die Spannung in deinen Armen, stehst jedoch fest auf deinen Beinen, ohne dich zu bewegen. Diese Spannung zwischen den Zellen kann durch die

Mikrosäulen gemessen werden. Wir haben gezeigt, dass sich die Zell-Zell-Adhäsionskräfte unter solchen Gleichgewichtsbedingungen gleichmäßig mit der gesamten aufgebrachten Zugkraft erhöht. Um eine Spannung an dem Zell-Zell-Kontakt hervorzurufen, haben wir die Blöcke mit einer dünnen Schicht verbunden. Im Experiment wird diese Schicht gedehnt, was den Abstand der Blöcke erhöht. Dabei lokalisiert sich die erzeugte Spannung hauptsächlich am Zell-Zell-Kontakt und lässt die Zellen auf den Blöcken nahezu unberührt. In unserem Beispiel nimmt die Spannung in deinen Armen zu, wenn du die Hände der anderen Personen hältst und Schritt für Schritt zurück gehst. Außerdem übst du dabei einen größeren Widerstand mit deinen Beinen auf den Boden aus. Die Erhöhung der von den Zellen auf das Substrat aufgebrachten Zugkräfte kann von unserem CC-SD gemessen werden. Es gibt Auskunft über die schrittweise erhöhte Spannung zwischen den Zellen und trennt sogar den Zell-Zell-Kontakt. Unser neu entwickeltes CC-SD eröffnet Möglichkeiten zur Analyse von maximalen Adhäsionskräften, welche Zellen im Gewebe aushalten können und gibt Aufschluss über die Robustheit von Zell-Zell-Adhäsionen während dynamischer Prozesse in der Gewebeentwicklung.

Wie wir bereits in **Kapitel 1** besprochen haben, durchlaufen Zellen in Geweben dynamische Prozesse, bei denen Zell-Substrat- und Zell-Zell-Adhäsionen eine wichtige Rolle spielen. Die Drücke und Spannungen von benachbarten Zellen verursachen Formveränderungen einzelner Zellen und treiben sogar kollektive Zellbewegungen innerhalb eines Gewebes voran. Wenn du in einer dicht gedrängten U-Bahn in der Nähe einer Tür stehst, der Zug anhält und die Tür plötzlich aufgeht, hast du manchmal keine Chance, im Wagen zu bleiben. Du bist gezwungen, dem Strom der anderen Passagiere zu folgen. Das kollektive Verhalten und die gemeinschaftliche Ausrichtung von Zellen sind aktueller Forschungsgegenstand und finden sich in den unterschiedlichsten Systemen wie bei der Wundheilung, Krebsmetastasierung und der Embryonalentwicklung wieder. Um die Kollektivität von Zellen während der Bewegung zu erklären und zu untersuchen, haben Wissenschaftler in der Physik der weichen Materie hauptsächlich die sogenannte nematische Symmetrie verwendet, die von Flüssigkristallen, d.h. stäbchenförmigen Strukturen, abgeleitet ist. Die Nematik beschreibt die Orientierung und Ausdehnung von einzelnen Zellen und ihre kollektive Ausrichtung auf globaler Ebene. Die kollektive Ausrichtung kann durch einen einzigen Wert beschrieben werden, dem nematischen Ordnungsparameter. Dieser stellt dar, wie gleichmäßig alle Zellen ausgerichtet sind. Wenn du dir ein Zellgewebe jedoch genauer ansiehst, stellst du fest, dass Zellen nicht immer länglich sind. Zellen können eine abgerundete Form haben und sich

gemeinsam mit ihren Nachbarn in einem sechseckigen Muster ausrichten, in dem die Abstände zu allen sechs Nachbarn nahezu gleich sind. Um diese sechs Vorzugsrichtungen zu berücksichtigen, bedarf es einer anderen Art von Symmetrie, nämlich der hexatischen Symmetrie. Die Beschreibung von Zellen in zweidimensionalen Schichten basierend auf der nematischen und hexatischen Ordnung war das Thema in **Kapitel 4**. Wir kombinierten experimentelle Beobachtungen mit numerischen Simulationen und verglichen die hexatische und nematische Ordnung von Zellsystemen über verschiedene Längenskalen hinweg. Auf der Einzelzellebene haben wir gezeigt, dass Zellen tatsächlich eine dominante hexatische Ordnung haben. Sie sind eher sechseckig-rundlich als länglich. Als wir die Zellen ihrer nächsten Nachbarn mit in Betracht zogen, sahen wir, dass das Zellsystem von der hexatischen zur nematischen Symmetrie wechselte, je mehr benachbarte Zellen berücksichtigt wurden. Die Ergebnisse zeigten, dass unser neuartiger Ansatz die Koexistenz von hexatischer und nematischer Symmetrie auf unterschiedlichen Längenskalen identifiziert. Die Kenntnis der korrekten Symmetrie des Systems eröffnet die Möglichkeit, die hierarchische Struktur von Zellen in Geweben zu untersuchen, wie Zellen sich koordinieren und eine multizelluläre Organisation erreichen.

Die multizelluläre Organisation ist wichtig für Entwicklungsprozesse und kommt in Krebsmetastasen vor. Wir haben bereits in **Kapitel 2** gezeigt, dass verschiedene Zelltypen aufgrund ihrer Zugkräfte und Zell-Zell-Adhäsion unterschiedliche morphologische Eigenschaften haben. Der wichtigste Gewebetyp in unserem menschlichen Körper, der alle Oberflächen einschließlich der Organe bedeckt, ist das Epithelgewebe. Epithelien sind für ihre starke Zell-Zell-Adhäsion bekannt. Unter bestimmten Umständen können Epithelzellen ihre Zell-Zell-Adhäsion verlieren, stärkere Adhäsionen zum Substrat entwickeln, an Mobilität gewinnen und sogar vereinzelt auftreten. Dieser Prozess wird als Epithel-Mesenchym-Übergang bezeichnet, bei dem sich Zellen von epithelialen Gewebezellen in invasive und mobile mesenchymale Zellen verwandeln, die an der Wundheilung, Fibrose und Krebsentstehung beteiligt sind. Während dieser Prozesse verändert sich die gesamte multizelluläre Organisation. In **Kapitel 4** haben wir gezeigt, dass die Symmetrie von Geweben auf verschiedenen Längenskalen unterschiedlich ist und möglicherweise mit der multizellulären Organisation zusammenhängt. Wie verändert sich die Symmetrie des Gewebes, wenn Zellen ihre Adhäsionseigenschaften und Gewebe ihre zelluläre Kompaktheit ändern? Diesen Fragen sind wir in **Kapitel 5** nachgegangen, indem wir Epithelzellen mit mesenchym-ähnlichen Zellen verglichen haben. Bei den mesenchym-ähnlichen Zellen sind im Gegensatz zu Epithelzellen

nur eine bestimmte Art von Zell-Zell-Adhäsionsmolekülen entfernt worden. Die Entfernung der Adhäsionsmoleküle führt zu einer starken Ausbildung des Zellskeletts, um die Stabilität der Zelle auf dem Substrat zu erhöhen. Um bei unserem obigen Beispiel zu bleiben: Wenn du in einer überfüllten U-Bahn stehst, hältst du das Gleichgewicht durch die anderen Fahrgäste. Es gibt keinen Platz zum Hinfallen. Wenn jedoch weniger Fahrgäste anwesend sind, müssen deine Beine das Gleichgewicht halten und koordinieren. In unseren Experimenten konnten wir zeigen, dass mesenchymal-ähnliche Zellen aufgrund ihres stark ausgeprägten Zellskelett-Netzwerks größer sind und sich tatsächlich stärker ausbreiten. Als wir die Symmetrie der einzelnen Zellen im Gewebe untersuchten, stellten wir fest, dass die Zellen unabhängig von der Existenz des bestimmten Typs von Zell-Zell-Adhäsionsmolekülen eine dominante hexatische Anordnung aufweisen. Dies ist auch der Fall, unabhängig davon, wie stark sie im Gewebe zusammengedrückt sind. Die Zellen ziehen es vor, hexagonal-rundlich zu sein, anstatt länglich und nematisch. Betrachtet man wiederum mehr und mehr benachbarte Zellen, so weist die zweidimensionale Schicht wiederum eine höhere und dominante nematische Symmetrie auf. Dieser Übergang von hexatisch zu nematisch, d. h. wie viele benachbarte Zellen berücksichtigt werden, hängt von der Zell-Zell-Adhäsion ab. Das Entfernen von Zell-Zell-Adhäsionsmolekülen führt zu einer dominanten nematischen Organisation in multizellulären Systemen auf globaler Ebene und ihre gemeinschaftliche Ausrichtung dominiert. Zellen mit starken Zell-Zell-Kontakten behalten ihre hexatische Organisation für etwas längere Längenskalen bei. Dies gilt auch für zweidimensionale Schichten mit höherer Zelldichte. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass das Zusammenspiel von Zell-Substrat- und Zell-Zell-Adhäsion die Längenskala der hexatischen Symmetrie kontrolliert.

Es bleiben jedoch viele Fragen offen. Ist es möglich, optische Merkmale von Zellen wie die Gewebesymmetrie, die kollektive Bewegung und Zellformänderungen zu untersuchen und diese Informationen zu verwenden, um interzelluläre Mechanismen zu identifizieren? Können wir die 'Symptome' von Zellen untersuchen, um die korrekte 'Diagnose' einer gestörten Gewebeorganisation zu erhalten? Können wir ein Muster erkennen und sogar das kollektive Verhalten von Zellen und damit verschiedene Entwicklungsprozesse vorhersagen?

Fragen über Fragen. Wenn du nicht aufgehört hast zu lesen und immer noch wach bist, hoffe ich, dich davon überzeugt zu haben, dass diese Doktorarbeit ein Kapitel zur Beantwortung dieser Fragen eröffnet. Wir haben gezeigt, dass die Zellmechanik und die geometrischen Eigenschaften

wie die Zell- und Gewebesymmetrie Informationen über die interzelluläre Prozesse und der Zell-Zell-Interaktionen auf molekularer Ebene liefern. Das Verbinden von Wissen aus verschiedenen Forschungsdisziplinen ist für eine lückenlose Forschung unerlässlich und eröffnet Möglichkeiten, alle Puzzlestücke der Wissenschaft zu einem Gesamtbild zusammenzufügen.

*Julia Eckert*

