



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Nemaline Myopathie im Mausmodell sowie potentielle Biomarker degenerativer Skelettmuskelerkrankungen

Autor: Christine H. Kohl
Institut / Klinik: Institut für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. Ch. Witt

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Identifikation translationaler Biomarker zur Prädiktion der Skelettmypathie abgeleitet von Mausmodellen. Darüber hinaus sollten Gene und Proteine identifiziert werden, die mit dem durch ein verlängertes Überleben charakterisierten Phänotyp von Neb/lts Mäusen assoziiert sind und potentielle Zielmoleküle zur target-orientierten Entwicklung von Therapieansätzen sein könnten.

Im ersten Teil der Arbeit wurde der makroskopische und molekularbiologische Phänotyp zweier Nebulin defizienter Mausmodelle, Tiermodelle für die Nemaline Myopathie, verglichen. Mäuse der Nebulin Knock Out Linie Neb/ns versterben an den myopathischen Folgen der Nebulindefizienz nach spätestens 21 Tagen. Tiere der zweiten Nebulin Knock Out Linie, Neb/lts, hervorgegangen aus der Ersten, überleben aufgrund ihres benigneren myopathischen Phänotyps bis zu acht Monate. Um erbliche Modifikatoren/Moleküle zu identifizieren und zu charakterisieren, die für das verlängerte Überleben verantwortlich sein könnten, wurden Transkriptom- und Translationsanalysen mit Muskelproben beider Mausmodelle durchgeführt. Dabei wurde in beiden Linien eine gestörte muskuläre Kalziumhomöostase mit dem Membranprotein Sarcolipin (Sln) als dem am stärksten erhöhten Vertreter sowie ein Fasertypen-Shift zu langsamen Isoformen kontraktiver Sarkomerproteine und eine Dysregulation von Proteinen der Z-Scheibe beobachtet. Gleichzeitig waren die aufgeführten Veränderungen in unseren Neb/lts Tieren fulminanter. In Skelettmuskeln beider Linien ist das Protein Carbonic Anhydrase 3 (CA3) stark erhöht. CA3 ist im Serum dystrophischer Patienten nachweisbar und könnte auch für die Nemaline Myopathie das Potential eines neuen Diagnosemoleküls haben. Anders als in der Skelettmuskulatur von Neb/ns Tieren war der Calcineurin-NFAT-Pathway in Neb/lts Mäusen aktiviert und die muskelspezifische miRNA 206 wurde in höheren Mengen gebildet. Beide verstärken sowohl Anabolismus als auch Regeneration in der Skelettmuskulatur. Darüber hinaus wird in den Neb/lts Tieren die FHL1 Isoform Slimmer vermehrt exprimiert, welche anti-apoptotische Wirkungen aufweist. Diese herausgearbeiteten Kandidaten könnten zum benigneren Phänotyp der Neb/lts Tiere beitragen und bieten neue Ansatzpunkte für die Entwicklung von Therapien zur Nemalinen Myopathie und möglicherweise auch für weitere Skelettmuskelerkrankungen.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden sowohl hereditäre myopathische als auch kurzfristige atrophische sowie inflammatorische Tiermodelle auf molekulare Dysregulationen in der Skelettmuskulatur hin untersucht. Ziel war es Moleküle zu identifizieren und zu charakterisieren, die in allen betrachteten myopathischen Prozessen dysreguliert vorliegen und potentielle Biomarker-Kandidaten darstellen. Vier Proteine wurden identifiziert, dies sind das sarkoendoplasmatische Retikulum Membranprotein Sarcolipin (Sln), die beiden Ankyrin Repeat Proteine ankrd1 und ankrd2 sowie das Extrazellulärmatrixprotein CILP-1 (Cartilage Intermediate Layer Protein 1). CILP-1 ist ausschließlich in den hereditären myopathischen Tiermodellen dysreguliert und scheint mit langfristigen fibrotischen Prozessen in der Skelettmuskulatur assoziiert zu sein. Sln, ankrd1 und ankrd2 sind nicht nur in den hereditären Modellen, sondern auch in den analysierten durch atrophische oder inflammatorische Vorgänge gekennzeichneten Tiermodellen stark erhöht oder sogar neo-exprimiert. Sln, das bisher nur als Inhibitor der sarkoendoplasmatischen Retikulum Kalziumpumpe SERCA bekannt war, erreicht durch Expressionssteigerung und Neo-Expression in den hereditären myopathischen Modellen das bis zu 130fache an Proteinmenge gegenüber korrespondierenden Wildtypen; diese Mengen gehen weit über die stöchiometrisch notwendige Menge zur SERCA-Inhibierung hinaus. Diese Beobachtung und die hier ebenfalls gefundene Sln-Erhöhung unter inflammatorischen Bedingungen sowie neue

Ergebnisse, die die Bildung von oligomeren Kanälen durch SIn belegen, führen uns zu der Hypothese, dass eine zusätzliche Funktion von SIn die Permeabilisierung mikrobieller Kompartimente sein könnte. Bei allen vier Proteinen gibt es Hinweise darauf, dass die gesteigerte Transkriptionsaktivierung durch verschiedene NFκB-Mitglieder mitgesteuert wird, die in myopathischen, atrophischen und in inflammatorischen muskulären Prozessen hochreguliert vorliegen.

Die in dieser Arbeit herausgearbeiteten Proteine SIn, ankrd1 und ankrd2 sind vielversprechende Krankheitsbiomarker für hereditäre und nicht hereditäre Skelettmuskeldystrophien und das Protein CILP-1 für fibrotische Prozesse, was mit humanen Muskelproben validiert werden sollte.