



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

Charakterisierung und zelluläre Lokalisation des Guaninnukleotid-Austauschfaktors p63RhoGEF als Mediator der Ang II-induzierten Sekretion des profibrotischen Faktors CTGF in neonatalen kardialen Fibroblasten

Autor: Cleo-Aron Weis
Institut: Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie
Doktorvater: Prof. Dr. T. Wieland

Die kardiale Fibrose, welche unter anderem durch eine erhöhte intrakardiale Expression und Sekretion von CTGF gekennzeichnet ist, stellt aufgrund ihrer hohen Prävalenz, ihres chronischen Verlaufs und der fehlenden antifibrotischen Therapiestrategien ein nicht unerhebliches Gesundheitsproblem dar. Die Ätiologie und Pathogenese sind bis heute nur unvollständig geklärt, viele Studien deuten allerdings eine Rolle von erhöhten Hormonen-Spiegeln (Ang II, ET 1) und erhöhte Konzentration des profibrotischen Zytokins TGF- β an. Vor diesem Hintergrund war es Gegenstand dieser Promotionsarbeit, die Regulation der CTGF-Sekretion bzw. -Expression (i) und die intrazelluläre Lokalisation (ii) der involvierten Signalkaskade in kardialen Fibroblasten (neonatale kardiale Rattenfibroblasten) zu untersuchen.

(i) Zunächst wurde unter verschiedenen Glukosekonzentrationen die Rolle von Ang II in der CTGF-Expression und Sekretion in NRCF untersucht. Einerseits zeigte sich bei niedriger Glukosekonzentration, dass Ang II zu einer erhöhten Expression und Sekretion von CTGF führt. Andererseits zeigte sich bei hoher Glukosekonzentration, dass die Ang II-vermittelte CTGF-Expression und -Sekretion nicht zwingend miteinander gekoppelt sind. In der Folge wurden ausgehend von dem AT₁R, welcher unter anderem G_{q/11}, G_{12/13} und G_i-Proteine aktiviert, verschiedene an der Ang II-vermittelten CTGF-Sekretion beteiligte Signalmediatoren identifiziert. Hierbei konnte eine entscheidende Beteiligung von G_{q/11} bzw. dem G_{q/11}-spezifischen p63RhoGEF gegenüber G_{12/13} gezeigt werden (p63RhoGEF-shRNA-Konstrukt). Des Weiteren konnte auch gezeigt bzw. bestätigt werden, dass eine Hemmung der RhoA-Aktivität (Inhibitor C3T) sowie der nachgeschalteten ROCK1/2 bzw. der ROCK1/2 und PKN (Inhibitor H1152-P bzw. Fasudil) zu einer Hemmung der stimulierten CTGF-Expression führen. Basierend auf diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, dass einerseits die CTGF-Sekretion G_{q/11}/p63RhoGEF/RhoA-mediert ist und dass andererseits die CTGF-Synthese zwar ebenfalls über einen RhoA-abhängigen, aber p63RhoGEF-unabhängigen Signalweg vermittelt wird.

(ii) Mittels einer Depletion von Cholesterin aus den Membranen (M β CD) konnte die Abhängigkeit der Ang II-vermittelten RhoA-Aktivierung, sowie der konsekutiven CTGF-Sekretion von cholesterinhaltigen Membranmikrodomänen gezeigt werden. Des Weiteren konnte die Untersuchung der Zusammensetzung dieser Cholesterin-haltigen Membransubdomänen mit verschiedenen methodischen Ansätzen (Membrandepletion, Fraktionierung, konfokale Mikroskopie) die Proteine der an der CTGF-Sekretion beteiligten AT₁R/G_{q/11}/p63RhoGEF/RhoA-Kaskade insbesondere in den Caveolae von NRCF lokalisieren.

Zusammenfassend zeigt diese Promotionsarbeit, dass die Ang II-induzierte Sekretion von CTGF in kardialen Fibroblasten über einen p63RhoGEF und RhoA umfassenden, in den Caveolae lokalisierten Signalweg vermittelt wird. Dieser pathophysiologische Zusammenhang könnte für weitere *in vitro*- sowie *in vivo*-Untersuchungen insbesondere im Hinblick auf mögliche pharmakologische Eingriffe interessant sein.