

Clara Sandmann  
Dr. med.

## **Regulation der kardialen Hypertrophie durch Cullin-associated NEDD8-dissociated Protein 2**

Fach/Einrichtung: Innere Medizin  
Doktormutter: Dr. med. Mirko Völkers

Ziel dieser Arbeit war es, die Rolle des Proteins Cand2 bei kardialem Wachstum *in vitro* und *in vivo* zu charakterisieren. Bei Cand2 handelt es sich um ein muskelspezifisches Protein, welches bisher vor allem im Skelettmuskel untersucht worden ist. Hier spielt es eine wachstumsfördernde Rolle während der Myogenese, indem es zu einer Anreicherung von Transkriptionsfaktoren der Muskeldifferenzierung führt.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass das Protein Cand2 sowohl *in vitro* als auch *in vivo* für den kardialen Hypertrophieprozess notwendig ist. So wiesen Cand2-defiziente Mäuse als Reaktion auf eine TAC-induzierte Druckbelastung ein deutlich geringeres hypertrophes kardiales Wachstum auf und eine bessere kardiale Funktion als Wildtypmäuse. Ein Knockdown von Cand2 in Kardiomyozyten führte sowohl basal als auch nach Wachstumsstimulation zu einer reduzierten Zellgröße. Umgekehrt induzierte eine Überexpression von Cand2 *in vitro* ein Wachstum der Kardiomyozyten.

Als einen zugrundeliegenden Mechanismus, durch den Cand2 kardiales Wachstum beeinflusst, wurde eine Regulierung der Aktivität des SCF-Komplexes identifiziert. Dieser Vorgang wird über eine mit Nedd8 kompetitive Bindung von Cand2 an Cull1 vermittelt. Ferner konnte gezeigt werden, dass eine erhöhte Cand2-Konzentration zu einer reduzierten Neddylierung von Cull1 führt und eine verminderte Cand2-Konzentration zu einer vermehrten Neddylierung von Cull1. Da die Aktivität des SCF-Komplexes reduziert ist, wenn Cull1 nicht neddyliert ist, verringert Cand2 hierüber die Ubiquitinierung von Zielproteinen.

Eines der Proteine, welches Cand2 durch diesen Mechanismus stabilisiert, ist die Kinase Grk5. Es ist bekannt, dass Grk5 bei pathologischem Stress im Herzen hochreguliert wird und eine hypertrophe Genexpression induziert. In dieser Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass eine Cand2-Überexpression in Kardiomyozyten eine erhöhte Grk5-Proteinkonzentration verursacht. Umgekehrt resultierte ein Cand2-Knockdown in einer reduzierten Grk5-Proteinkonzentration. Dass die *Grk5*-Transkriptlevel unbeeinflusst blieben, spricht für eine Vermittlung dieser Effekt durch posttranskriptionelle Mechanismen. Auch führte eine direkte Hemmung der Neddylierung zu einer gesteigerten Zellgröße sowie zu erhöhten Grk5-Proteinleveln bei unveränderten mRNA-Konzentrationen. Für beide Effekte ist Cand2 offenbar essenziell, da sie durch einen gleichzeitigen Cand2-Knockdown weitgehend verhindert werden konnten. Zudem wurde gezeigt, dass eine Überexpression von Grk5 die reduzierte Zellgröße durch Fehlen von Cand2 vollständig kompensiert. Dies stützt die Hypothese, dass Cand2 seinen Einfluss auf die Zellgröße über eine Stabilisierung der Grk5-Konzentration vermittelt.

Interessanterweise konnte nachgewiesen werden, dass eine Hemmung der Neddylierung mit einer erhöhten Cand2-Proteinkonzentration bei unveränderten *Cand2*-mRNA-Spiegeln einhergeht. Dies könnte auf eine Stabilisierung von Cand2 durch seine Interaktion mit Cull1 zurückzuführen sein.

Zudem konnte gezeigt werden, dass Cand2 die Aktivität des mTORC1-Signalweges beeinflusst. So führten hohe Cand2-Spiegel zu einer gesteigerten mTORC1-Aktivität und niedrige Cand2-Spiegel zu einer reduzierten mTORC1-Aktivität. Da Cand2 selbst mTOR-abhängig während pathologischer Hypertrophie reguliert wird, scheint hier ein positiver Feedbackmechanismus zu existieren, über welchen sich mTOR und Cand2 gegenseitig verstärken.

Zusammenfassend konnte diese Arbeit einen prohypertrophen Effekt von Cand2 auf das Myokard nachweisen, welcher zumindest teilweise auf einer Cand2-vermittelten Regulation des SCF-Komplexes beruht.