

Dayoung Yu

Dr. sc. Hum

## **Study of osteoclast metabolism: Gαq-activated mitochondrial functions and regulatory intervention of succinate via protein succinylation**

Fach/Einrichtung: Hygiene

Doktormutter: Frau apl. Prof. Dr. Katharina Hieke-Kubatzky

Osteoklasten sind im Rahmen des Knochenbaus für den Abbau von Knochenmaterial verantwortlich. Ein Ungleichgewicht in der Knochenhomöostase, das auf eine Überaktivierung der Osteoklasten zurückzuführen ist, erhöht das Risiko osteoporotischer Frakturen. Obwohl der Stoffwechsel von Osteoklasten biologische Aktivitäten wie Differenzierung und Knochenresorption reguliert, sind diese metabolischen Prozesse bisher nicht gut untersucht. Das bakterielle Proteintoxin PMT aus *Pasteurella multocida* verursacht durch konstitutive Aktivierung des heterotrimeren G Proteins Gαq in Schweinen eine fortschreitende atrophische Rhinitis. Vorläufige Ergebnisse einer Proteomstudie zeigten, dass PMT im Vergleich zur klassischen Zytokinstimulation mit M-CSF und RANKL einen drastischen Anstieg der Stoffwechselaktivität in Osteoklasten induziert. Ziel dieser Dissertation war es daher, die Rolle des Signalmoleküls Gαq bei Stoffwechselereignissen und den daraus resultierenden Veränderungen der Osteoklastenaktivität zu untersuchen. In der vorgelegten Arbeit konnte eine bisher unbekannt starke Korrelation zwischen der Aktivierung von Gαq und dem Osteoklastenstoffwechsel nachgewiesen werden. Die PMT-induzierte Gαq-Aktivierung verstärkte hierbei insbesondere zu Beginn der Differenzierung den Glukosestoffwechsel sowie den anabolen mTOR Signalweg, um letztlich die mitochondriale Proteinexpression und Atmungsaktivität aufrechtzuerhalten. Bemerkenswert ist, dass die Gαq-Aktivierung die mitochondrialen Funktionen durch eine direkte Interaktion zwischen mitochondrialem STAT3 und dem Fusionsprotein OPA1 unterstützt. Durch Überexpression von Gαq konnte die physiologische Bedeutung von Gαq bestätigt werden, da sie den hypermetabolischen Phänotyp der PMT-behandelten Osteoklasten reproduzierte. Eine Proteomanalyse der OPA1-Interaktionspartner zeigte, dass diese Proteine hauptsächlich für stoffwechselbezogene Aktivitäten wie Glykolyse, Proteintranslation und Abwehrmechanismen gegen oxidativen Stress wichtig sind. Des Weiteren konnte in dieser Arbeit eine neue Rolle des Metaboliten Succinat bei der Regulierung des Osteoklastenstoffwechsels identifiziert werden. Aktive Mitochondrien akkumulieren Metabolite wie Succinat, für das eine pathologische Rolle bei Patienten mit rheumatoider Arthritis gefunden wurde. Succinat ist bereits als Signalmolekül und Entzündungsmediator bekannt, Succinat kann aber auch als posttranslationale Modifikation von Proteinen wirken. In dieser Dissertation wurde die Rolle der Proteinsuccinylierung für die Differenzierung von Osteoklasten untersucht. Die vorliegende Arbeit zeigt, dass Osteoklasten intrazelluläres Succinat produzieren, welches hauptsächlich genutzt wird, um mitochondriale Proteine zu succinylieren. Interessanterweise ergab eine LC-MS/MS-Analyse, dass insbesondere Enzyme des Zitratzyklus das Hauptziel der Proteinsuccinylierung sind. Weitere funktionale Experimente deuten darauf hin, dass die Zitrat-Synthase das am stärksten succinylierte Protein in Osteoklasten ist und mit steigenden RANKL Konzentrationen eine Abnahme der Aktivität aufwies, was auf eine mögliche Rolle der Succinylierung als Regulierungsmechanismus des

Osteoklastenstoffwechsel hindeutet. Die Daten der vorgelegten Arbeit legen nahe, dass Goq als neuartiger diagnostischer Marker und potenzielles therapeutisches Ziel zur Therapie von Stoffwechselstörungen genutzt werden könnte. Darüber hinaus belegt diese Arbeit einen Zusammenhang zwischen Osteoklastendifferenzierung und Proteinsuccinylierung als zentraler Regulator der Stoffwechselwege von Osteoklasten.